МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

VI МІЖНАРОДНА НАУКОВА КОНФЕРЕНЦІЯ СТУДЕНТІВ ТА АСПІРАНТІВ

МОЛОДЬ І ПОСТУП БІОЛОГІЇ

ЗБІРНИК ТЕЗ
(21-24 ВЕРЕСНЯ 2010 РОКУ, М. ЛЬВІВ)

ЛЬВІВ – 2010

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE
IVAN FRANKO NATIONAL UNIVERSITY OF LVIV

VI INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE FOR STUDENTS AND PHD STUDENTS

YOUTH AND PROGRESS OF BIOLOGY

ABSTRACTS BOOK
(SEPTEMBER 21-24, 2010, LVIV)

LVIV – 2010

УДК 581.1:577

Молодь і поступ біології: збірник тез VI Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів (21-24 вересня 2010 року, м. Львів). – Львів, 2010. – 240 с.

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

За достовірність викладених наукових даних і текст відповідальність несуть автори.

Організатори конференції висловлюють глибоку подяку ректорату Львівського національного університету імені Івана Франка, Українсько-американському доброчинному фонду "Сейбр-Світло", Товариству Прихильників Львівського університету (The Friends of Lviv University, Inc, USA).

Редакційна колегія: Гнатуш С., Прокопів А., Перетятко Т., Галушка А., Бура М., Рабик М., Яворницька І., Гнатина О., Качмар Б., Гарайда О., Котлярова А., Переймибіда Л., Зинь А., Романюк М., Микитин Н., Починок Т., Гнатуш А., Струс Ю.

Науковий комітет: проф. Волгін С. О., проф. Гудзь С. П., проф. Клевець М. Ю., проф. Санагурський Д. І., проф. Сибірна Н. І., проф. Терек О. І., проф. Федоренко В. О., проф. Царик Й. В.

Youth and Progress of Biology: abstracts book of the VI International Scientific Conference of Students and PhD Students (September 21-24, 2010, Lviv). – Lviv, 2010. – 240 p.

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

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

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

Editorial board: Hnatush S., Prokopiv A., Peretyatko T., Halushka A., Bura M., Rabyk M., Yavornytska I., Gnatyna O., Kachmar B., Garayda O., Kotlyarova A., Perejmybida L., Zyn' A., Romanyuk M., Mykytyn N., Pochynok T., Hnatush A., Strus Y.

Scientific committee: prof. Volgin S. O., prof. Gudz S. P., prof Klevets M. Y., prof. Sanagursky D. I., prof. Sybirna N. I., prof. Terek O. I., prof. Fedorenko V. O., prof. Tsaryk Y. V.

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

Міністерство освіти і науки України
Львівський національний університет імені Івана Франка

Молодь і поступ біології

ЗБІРНИК ТЕЗ
VI Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів
21-24 вересня 2010 року

Львів – 2010

Ministry of Education and Science of Ukraine
Ivan Franko National University of Lviv

Youth and Progress of Biology

ABSTRACTS BOOK
of the VI international scientific conference
for students and PhD students
September 21-24, 2010

Lviv – 2010

ЗМІСТ

БІОФІЗИКА	6
БІОХІМІЯ	21
БОТАНІКА	51
ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ	65
ЕКОЛОГІЯ	109
ЗООЛОГІЯ	125
ІНТРОДУКЦІЯ РОСЛИН	136
МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІ ТА ІМУНОЛОГІЯ	143
МОЛЕКУЛЯРНА ТА КЛІТИННА БІОЛОГІЯ	181
ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН	196
ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН, БІОМЕДИЦИНА	214
АВТОРСЬКИЙ ПОКАЗЧИК	234

CONTENTS

BIOPHYSICS	6
BIOCHEMISTRY	21
BOTANY	51
GENETICS AND BIOTECHNOLOGY	65
ECOLOGY	109
ZOOLOGY	125
PLANTS INTRODUCTION	136
MICROBIOLOGY, VIROLOGY AND IMMUNOLOGY	143
MOLECULAR AND CELL BIOLOGY	181
PLANTS PHYSIOLOGY	196
HUMAN AND ANIMALS PHYSIOLOGY, BIOMEDICINE	214
INDEX	234

БІОФІЗИКА / BIOPHYSICS

Horbay R.[1], Manko B.[1], Manko V.[1], Lootsik M.[2], Stoika R.[1,2]

VINBLASTINE TREATMENT ALTERS PERMEABILIZATION OF LYMPHOMA NK/LY CELLS BY DIGITONIN

[1]Ivan Franko Lviv National University, 4, Grushevsky str., Lviv, 79005, Ukraine
[2]Institute of Cell Biology of NAS of Ukraine, 14/16, Drahomanov str., Lviv, 79005, Ukraine[2]
rosthor@gmail.com

In the last decade there has been a significant increase of articles related to giant cell transformation in different cancers. But it's still unknown what mechanisms are involved in such giant cancer cell's transformation. After vinblastine treatment NK/Ly lymphoma cells undergo giant cell transformation with several cytoskeletal and membrane changes. Our aim was evaluate optimal conditions of NK/Ly-cells permeabilization in order to measure mitochondrial respiration *in situ*.

NK/Ly lymphoma cell population was cultivated *in vivo* by intraperitoneal inoculation of 25 million cells into C57 black 4-month mice. Animal weighting was performed every 24 hours. On day 7-10, when the weight increased by 50-60%, mice were drained. To obtain giant cell population (<17 mkm), mice were injected 1% vinblastine solution (maximum 50 µg) 3 days before drainage. Cell suspension (approximately $5*10^6$cells/ml) was washed twice from the ascitic fluid with solution containing KCl – 90.0 mM, NaCl – 15.0 mM, KH_2PO_4 – 2 mM, $MgCl_2$ – 1.0 mM, HEPES–10.0 mM, EGTA – 0.5 mM, pH 7.2. Afterwards permeabilization with digitonin was performed. To evaluate concentration of digitonin, sufficient to completely permeabilize plasma membranes of NK/Ly cells, we used it in concentrations 5-150 µg/ml/$5*10^6$ cells. Cell permeabilization was determined experimentally using trypane blue test and measurement of LDH release using nitrobluetetrasolium. Additionally, we measured respiration rate at 37^0C of digitonin-permeabilized NK/Ly cells by the polarographic method with Clark oxygen electrode. Respiration was stimulated with α-ketoglutarate (1 mM), succinate (0.35 mM) and ADP (0.75 mM).

Complete permeabilization of intact NK/Ly cells was achieved after treatment with 20 µg/ml of digitonin per $5*10^6$ cells. Surprisingly, giant cells were permeabilized onla after using 150 µg/ml digitonin per $5*10^6$ cells. Activity of released LDH after complete permeabilization was three times higher in giant vinblastine treated cells comparing to intact cells. Endogenous respiration rate of intact and giant cells decreased after permeabilization. Substrates and ADP stimulated respiration proportionally to permeabilization degree.

Thus we conclude, that vinblastine treated cells have higher resistance to digitonin. It may by associated with higher cell surface or low cholesterol content, but this needs further investigation.

Бено Ю., Дика М., Скварко К.

РОСТОВІ ПРОЦЕСИ У ДУРМАНА ЗВИЧАЙНОГО ЗА ДІЇ ПОСТІЙНОГО МАГНІТНОГО ПОЛЯ

Львівський національний університет імені Івана Франка.
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
biolog@franko.lviv.ua

Проведено експериментальне дослідження у контрольованих умовах характеру росту і розвитку рослин після обробки насіння дурману звичайного постійним магнітним полем (ПМП) невисокої напруженості. *Datura stramonium* L. (дурман звичайний, родина пасльонових) – цінна лікарська рослина, має протизапальні, спазмолітичні властивості. Її листя входить до складу протиастматичних засобів, а насіння є сировиною для отримання атропіну. У гомеопатії дурман звичайний використовують для лікування коклюшу, правця, епілепсії, менінгіту та інших хвороб. Вирощування цих рослин пов'язане з їх подальшим використанням у фармакології.

Для дослідів середні взірці сухого насіння *Datura stramonium* L. поміщали у ПМП підковоподібного магніту (B = 5, 30 та 60 E) на 30 хв, 60 хв, 19 год, 24 год та 43 год. Напруженість ПМП визначали за допомогою датчика Холла. Насіння рівномірно розміщали в чашках Петрі

на фільтрувальному папері, зволоженому дистильованою водою, і залишали у термостаті за температури 30,7°С до появи схожості. Підрахунок пророслого насіння проводили щодня. Швидкість проростання (Vs) та схожість насіння розраховували у відсотках після статистичного аналізу результатів, одержаних у 4-х вибірках по 50 насінин в кожній. Проросле насіння переносили на середовище Гельрігеля, витримували до 30 днів у вегетативній кімнаті за температури 22–24°С за природного освітлення. Морфометричним показником росту була довжина коріння та стебел проростків у одні і ті ж моменти часу. Первинна статистична обробка вибірок не менше 25 вимірів полягала в обчисленні середніх значень і їхніх стандартних похибок. Усі зміни за дії ПМП оцінювали відносно часового тренду росту контрольних (норма) рослин.

Виявилося, що нетривале (до 15-ти годин) перебування насіння дурману звичайного у ПМН (5 Е) підвищує схожість насіння майже у 2 рази порівняно з нормою. У цьому випадку уже через 24 години після початку досліду можна було виявити перші сходи рослин. Збільшення тривалості дії ПМП до 24 і більше годин гальмувало схожість насіння. Тільки на 5 день в усіх варіантах досліду можна було виявити проросле насіння. Морфометричний аналіз росту проростків дурману звичайного, вирощеного на середовищі Гельрігеля в умовах водних культур показав, що уже через 6 днів після перенесення рослин у водні культури довжина коріння за дії ПМП (варіанти 5 Е) була в 1,2 – 1,4 разу більшою, ніж у нормі. Відтак у 12-денних рослин вона і в інших випадках досягла норми. Характер розвитку наземної частини рослин на початкових етапах суттєво не відрізнявся від контрольних рослин. Після 3-тижневого вирощування рослин у контрольованих умовах на водному середовищі проведено біометрію листкових пластинок. Одержані результати свідчать про те, що формування надземних органів у рослин за дії ПМП залежить у першу чергу від тривалості дії магнітного поля та його напруженості. Наприклад, площа листкової пластинки у 14- денних рослин дурману звичайного за дії ПМП (5 Е, тривалість 3 год) була у 1,5 разу більшою, ніж у контролі.

Отже, перебування насіння дурману звичайного у ПМП змінює його Vs та схожість, ріст і розвиток рослин на початкових етапах онтогенезу. Цей ефект значною мірою залежить від напруженості та тривалості дії ПМП. Для покращення насіннєвих, ростових показників та швидкості росту рослин на початкових етапах онтогенезу можна рекомендувати застосування ПМП, напругою 5 Е, тривалістю дії 30–180 хв для стимуляції росту рослин.

Генега А., Мандзинець С., Бура М., *Яремкевич О., *Лубенець В., Санагурський Д.

ЗМІНИ ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ МЕМБРАН УПРОДОВЖ РАННЬОГО ЕМБРІОГЕНЕЗУ ПІД ДІЄЮ НОВОСИНТЕЗОВАНИХ АМІНОКИСЛОТНИХ ПОХІДНИХ 1,4- НАФТОХІНОНУ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
anastasiyah2@gmail.com
**Національний університет «Львівська політехніка»*
вул. Ст. Бандери, 12, м. Львів, 79013, Україна

Дослідження в галузі скринінгу та спрямованого синтезу синтетичних хінонів, які є потенційними інгібіторами пероксидного окиснення ліпідів і близькі за будовою до природних антиоксидантів, привертають увагу завдяки їх низькій токсичності й перспективі практичного використання в медицині (Л.Р. Журахівська, 2002).

Синтетичні N-похідні 1,4-нафтохінону мають перспективи практичного використання в медицині та фармації, оскільки їм властива низька токсичність (А. Ель Ідріссі, 2002), вони можуть бути активними в реакціях як з пероксидними, так і з алкільними радикалами, гальмувати окиснення як при надлишковому, так і при низькому тиску кисню, служити для захисту ліпідів при гіпоксії, при загрозі інфаркту (А. Ель Ідріссі, 2004). Природні хінони показали свою перспективність як інгібітори пероксидного окиснення ліпідів при гіпоксичному стані.

Досліджували вплив новосинтезованих амінокислотних похідних нафтохінону, а саме аланіну й аспарагіну, на трансмембранний потенціал (ТМП) зародків в'юна.

Протягом перших двох поділів значення періоду й амплітуди коливань мембранного потенціалу під дією амінокислотних похідних 1,4-нафтохінону аланіну й аспарагіну зберігалось

як і у контролі. У наступних поділах спостерігалося зменшення амплітуди і помітне зниження абсолютних величин досліджуваного показника з порушенням періодичності коливань ТМП.

Зсув у наростанні максимальних значень рівня ТМП спостерігаємо при дослідженні амінокислотного похідного 1,4-нафтохінону аланіну й аспарагіну, що свідчить про часткові порушення іонних транспортних систем у мембранах, які відіграють важливу роль під час генерації електричних потенціалів у клітині. Можливо, це пов'язано зі змінами перебігу деяких біосинтетичних процесів, що і відображається на динаміці ТМП.

Доценко В.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ АЛЛОКСАНУ НА ТРАНСПОРТ ГЛЮКОЗИ В ЕРИТРОЦИТАХ ТА АКТИВНІСТЬ ГЕКСОКІНАЗИ

Донецький національний університет
вул. Щорса, 46, м. Донецьк, 83050, Україна
dots_don@ukr.net

Алоксан у відповідних дозах викликає загибель інсулінпродукуючих b-клітин в острівці підшлункової залози *in vivo*. Показано (Lenzen S., 1988, Szkudelski T., 2001), що алоксан не володіє високою специфічністю і діє токсично на клітини й тканини усього організму. Однією із властивостей, що лежить в основі токсичності аллоксану, є його висока спорідненість до SH-груп компонентів клітини, включаючи відновлений глутатіон (GSH), цистеїн і сульфгідрильні групи білків (SH-групи ферментів також). Так, вважається, що найбільш уразливим до дії алоксану є фермент глюкокіназа. Глюкоза також зв'язується з SH-групами білків, тому між цими сполуками повинна існувати конкуренція за місця зв'язування.

У зв'язку зі сказаним, мета роботи полягала у вивченні впливу алоксану на транспорт і зв'язування глюкози з компонентами еритроцитів, а також на активність гексокінази – ферменту, що каталізує першу «пускову» реакцію гліколізу.

У доповіді будуть наведені й обговорені результати таких експериментів:

1. Пошук параметрів рівноважного зв'язування глюкози з компонентами еритроцитів у присутності алоксану в різних концентраціях (область концентрацій 10^{-4}¸10^{-10} моль/л). Встановлено, що алоксан в концентраціях 10^{-4}¸10^{-5} моль/л сильно змінює структуру цитоплазматичної води і значна частина глюкози надходить у клітину дифузійно. У присутності алоксану в концентрації 10^{-4} моль/л внесок адсорбційної компоненти незначний.×У присутності алоксану в концентрації 10^{-5} моль/л внесок адсорбційної компоненти зростає, проте×присутня також і дифузійна складова. В діапазоні концентрацій алоксану 1×10^{-6} ¸1×10^{-9} моль/л зв'язування глюкози різко знижується.×При цьому повністю відсутня дифузійна складова на кривій зв'язування. У зазначених концентраціях алоксан блокує місця зв'язування глюкози на мембрані еритроцитів, проте не змінює структуру клітинної води. За допомогою математичної моделі розраховані параметри рівноважного зв'язування глюкози, такі як кількість центрів зв'язування, константи зв'язування, ступінь кооперативності. Показано, що константи зв'язування глюкози з компонентами клітини і кількість центрів зв'язування немонотонно залежать від концентрації введеного алоксану і визначаються ступенем дезінтеграції компонентів клітини.

2. Вивчення динаміки зв'язування глюкози з компонентами клітини при інкубуванні їх у середовищі, що містить глюкозу (4 ммоль/л) і алоксан (10^{-4}¸10^{-10} моль/л). Часова залежність зв'язування алоксану з компонентами клітини має вигляд пікоподібної кривої. У присутності алоксану зв'язування глюкози спочатку різко зростає, а потім кількість зв'язаної глюкози знижується до рівня нижче контролю. Найбільш різке зниження зафіксоване при концентраціях алоксану в середовищі інкубування 1×10^{-4} та 1×10^{-5} моль/л.

3. Активність гексокінази (КФ 2.7.1.1) еритроцитів визначали в динаміці інкубування останніх у середовищі, що містить глюкозу (4 ммоль/л) і алоксан (10^{-4} ¸10^{-10} моль/л). Активність ферменту визначали спектрофотометрично, використовуючи крезоловий червоний як індикатор. Встановлено, що активність ферменту зростала в присутності алоксану. У доповіді буде зроблений аналіз приросту активності гексокінази залежно від концентрації введеного алоксану.

Житняковська О.[1], Улізко П.[2], Соколик О.[3], Дюбко Т.[4], Жегунов Г.[2]

ДОСЛІДЖЕННЯ КРІОЧУТЛИВОСТІ ЕРИТРОЦИТІВ ТВАРИН В УМОВАХ НИЗЬКОТЕМПЕРАТУРНОГО КОНСЕРВУВАННЯ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ФЛУОРЕСЦЕНТНИХ МЕТОДІВ

[1] Харківський Національний університет ім. В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, 61077, Україна;
[2] Харківська державна зооветеринарна академія, вул.Академічна, 1, сел.. Мала Данилівка, Дергачівський р-н , Харківська обл., 62341, Україна;
[3] ДНУ НТК "Інститут монокристалів НАН України", пр. Леніна, 60, Харків, 61001, Україна;
[4] Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, м. Харків, 61015, Україна;
tdyubko@mail.ru

Дослідження стійкості еритроцитів тварин, які мають різний білок-ліпідний склад мембран, до дії кріопротекторів, низької температури та інших супутніх факторів низькотемпературного консервування, дасть змогу більш чітко визначити причини загальної кріочутливості клітин і розробити методи, спрямовані на підвищення збереження червоних клітин крові у циклі заморожування-відігріву. Механізми кріочутливості еритроцитів людини достатньо досліджені, розроблено й ефективні методи їх кріоконсервування. У той же час, для еритроцитів тварин, які відрізняються від людських за білковим і ліпідним складом, методи кріоконсервування майже не розроблено, тому цей напрям досліджень залишається в теперішній час актуальним.

Метою роботи було вивчити стійкість еритроцитів різних видів сільськогосподарських тварин (бугая і коня) до кріоконсервування під захистом кріопротекторів різного механізму дії (гліцерину, ДМСО і ПЄО-1500) і дати оцінку структурно-функціонального стану деконсервованих клітин із застосуванням методів цитофлуориметрії, спектрофлуориметрії і лазерної конфокальної мікроскопії.

Показано, що гліцерин не здатний забезпечити захист еритроцитів тварин, які було досліджено, при низькотемпературному консервуванні. Високий рівень збереження клітин досягається при використанні ДМСО і ПЕО-1500 у концентраціях 10 об. %. Встановлено, що найбільш стійкими до процесу кріоконсервування у присутності кріопротекторів різного механізму дії виявились еритроцити бугая порівняно з еритроцитами коня. Виявлено, що після кріоконсервування з кріопротекторами спостерігаються морфологічні зміни еритроцитів тварин, які полягають у підвищенні вмісту ехіноцитарних форм. За допомогою методу проточної цитофлуориметрії з використанням нового флуоресцентного барвника МНБІС, який зв'язується з мембранами еритроцитів, показано існування відмінностей у взаємодії низько- і високомолекулярних кріопротекторів ДМСО і ПЕО-1500 з мембранами еритроцитів тварин до і після кріоконсервування.

Отримані результати свідчать про те, що найбільш ефективним кріопротектором при кріоконсервуванні еритроцитів бугая і коня є ДМСО. ПЕО-1500 здатний зберігати клітини у процесі заморожування-відігріву, однак після повернення таких клітин до фізіологічних умов вони пошкоджуються.

Кришталь Д., Кіт О., Рекалов В., Шуба Я.

ВК КАНАЛИ В ДІАБЕТИЧНІЙ МОДЕЛІ ГІПЕРАКТИВНОГО СЕЧОВОГО МІХУРА

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця
вул. Богомольця, 4, м. Київ, 01024, Україна
kit2448@gmail.com

Серед ускладнень діабету, які суттєво впливають на якість життя хворих, є нетримання сечі. На даний час основний метод лікування синдрому гіперактивного сечового міхура (СГАСМ), який лежить в основі нетримання сечі, полягає у використанні антагоністів мускаринових M_3 холінорецепторів гладеньком'язових клітин (ГМК) детрузора, а також ботулотоксину А, який зв'язується з пресинаптичними холінергічними нервовими закінченнями. Однак, оскільки ці препарати мають суттєві побічні дії, актуальним залишається виявлення додаткових механізмів регуляції скорочення ГМК детрузора при СГАСМ. Ca^{2+}-залежні K^+ канали великої провідності (ВК канали) відповідають за реполяризацію потенціалу дії ГМК детрузора та за генерацію спонтанних гіперполяризацій у відповідь на локальні вивільнення кальцію (спарки) із ріанодинчутливих кальцієвих депо.

У даній роботі ми порівняли макроскопічні струми через ВК-канали (I_{BK}) ГМК детрузора нормальних щурів та щурів з СГАСМ, викликаним стрептозотоцин-індукованим діабетом, із перспективою використання цих каналів як можливих мішеней для фармакологічної корекції спонтанного сечовипу-

скання. Струми ізольованих ГМК детрузора реєстрували за допомогою методу ”patch-clamp”, а компонент, пов’язаний з активацією ВК каналів, виділяли на основі його чутливості до специфічного блокатора ВК каналів паксиліну. Після розвитку діабету щури виявляли явні зовнішні ознаки нетримання сечі. При цьому в ГМК їх детрузора густина $I_{ВК}$, активованого деполяризацією до 0 мВ, становила тільки 0,3±0,05 пА/пФ, що майже у 20 разів менше порівняно з 5,4±0,04 пА/пФ у контрольних тварин. Частота й амплітуда спонтанних транзієнтних $I_{ВК}$ при -20 мВ також зменшувалися з 12±1,5 Гц і 0,87±0,05 пА/пФ у контролі відповідно до 2,4±0,6 Гц і 0,47±0,06 пА/пФ при діабеті.

Отримані дані свідчать, що зменшення $I_{ВК}$ за рахунок зниження експресії ВК каналів, їх дисфункції та/або порушення функціонування ріанодинових Ca^{2+} депо може відігравати суттєву роль у генезі СГАСМ.

Кучков В.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЗНИЖЕННЯ ТЕМПЕРАТУРИ ЗАМЕРЗАННЯ СУСПЕНЗІЙ ЕРИТРОЦИТІВ БИКА ПІСЛЯ ДОДАВАННЯ КРІОПРОТЕКТОРІВ МЕТОДОМ КРІОСКОПІЇ

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України
вул. Переяславська, 23, м. Харків, 65015, Україна
vkuchkov@yahoo.com

Вимірювання зниження точки замерзання розчину дає змогу з високою точністю визначити сумарну активну концентрацію розчиненої речовини в системі, а звідси - осмоляльність розчину. Якщо розчини багатокомпонентні, то внесок у зниження точки замерзання вносять усі осмотично активні речовини, причому сумарний ефект не є адитивною функцією від внесків кожного з компонентів унаслідок міжмолекулярних взаємодій у системі. Тому осмоляльність складних біологічних розчинів не можна розрахувати теоретично і в кожному конкретному випадку ця величина повинна вимірюватися експериментально. Якщо в системі присутні клітини, то ситуація ускладнюється додатковими взаємодіями розчинених речовин з клітинними компонентами. Ця проблема займає особливе місце в технологіях кріоконсервування клітин, які в більшості випадків пов’язані із застосуванням кріозахисних речовин, що не є природними компонентами живих систем і потребують видалення після відігрівання заморожених клітин.

Метою даної роботи стало дослідження зміни температури замерзання та осмоляльності суспензії еритроцитів бика після додавання кріопротекторів 1,2-пропандіолу, диметилсульфоксиду та гліцерину та подальшого відмивання клітин розчином хлориду натрію.

Визначення температур замерзання у суспензіях еритроцитів проводили за допомогою експериментального приладу, розробленого на базі осмометра ОМКА 1Ц-01 з удосконаленою кріоскопічною коміркою, яка дає змогу вимірювати температуру замерзання водних систем з похибкою ± 0,005ºС.

Встановлено, що при додаванні до суспензії еритроцитів бика досліджуваних кріопротекторів у концентраціях від 0,005% до 0,1% температура замерзання системи знижується нелінійно, тоді як у випадку водних розчинів кріопротекторів спостерігається лінійна залежність. Після потрійного відмивання еритроцитів в ізотонічному розчині NaCl температура замерзання суспензії підвищується, проте залишається нижче температури замерзання суспензії, що не містить кріопротекторів. Така відмінність може бути наслідком адсорбованих на еритроцитах молекул кріопротекторів, які залишилися після процедури відмивання.

Неофіта О., Отчич В., Дика М., *Мажак К.

ВПЛИВ ГЕЛІЙ-НЕОНОВОГО ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН КРОВІ У ЛЮДЕЙ ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
mary_dyka@yahoo.com
** Львівський науково-дослідний інститут епідеміології та гігієни МОЗ України*
вул. Зелена , 12, Львів 79005, Україна
kwitoslawa@ukr.net

Проблема підвищення ефективності лікування хворих на туберкульоз легень набуває все більшого значення через вичерпаність можливостей терапевтичних засобів. Це зумовлює необ-

хідність опрацювання нових, більш ефективних і сучасних методів, які дозволяють зменшити медикаментозне навантаження на організм, запобігти розвиткові токсико-алергічних реакцій, підвищити ефективність базисної терапії. Широкі перспективи у лікуванні відкриває використання низькоенергетичного лазерного випромінювання різної інтенсивності, яке забезпечує підсилення енергоутворюючих, детоксикаційних, протизапальних процесів у патологічно змінених тканинах, сприяє нормалізації гуморально-гормональної регуляції, стимулює неоангіогенез і репарацію, запобігає вазоконстрікції і має пролонгований ефект по завершенні терапії.

Метою роботи є дослідження впливу гелій-неонового лазерного опромінення крові у комплексній хіміотерапії (ХТ) деструктивних форм туберкульозу легень на процеси ПОЛ і на активність ферментів антиоксидантного захисту, електрофоретичний спектр білків мембран еритроцитів.

Дослідження проведено у116 вперше діагностованих хворих на деструктивний туберкульоз легень (50 з інфільтративним туберкульозом легень, 66 – з дисемінованим. Усі хворі отримували стандартну ХТ відповідно до ДОТС-стратегії. Крім цього, 40 хворим проводили внутрішньо судинне лазерне опромінення крові (ГН ВЛОК) гелій-неоновим лазером (1 група), 42 хворим – метод ВЛОК з використанням частотних модуляцій (ЧМ) до 10 кГц (2 група), решта хворих отримували лише хіміотерапію (3 група),

Інтенсивність процесів ПОЛ оцінювали за вмістом ТБК-позитивних продуктів, активність СОД визначали методом, що грунтується на окисленні кверцитину (вітаміну Р), каталазну активність – за швидкістю розкладу пероксиду водню. Для розділення білків використовували метод диск-електрофорезу у поліакриламідному гелі в градієнті концентрації з додецилсульфатом натрію (ДСН).

Встановлено, що застосування лазерного випромінювання сприяє достовірному зниженню процесів ПОЛ у мембранах еритроцитів хворих на туберкульоз і підвищенню активності основних ензимів антиоксидантного захисту (АОЗ) - СОД, каталази. ВЛОК з ЧМ до 10 кГц більш потужно активує антиоксидантну систему, і, за порівняно коротший час: показники ПОЛ – ТБК-активні продукти й активність ферментів АОС наближаються до норми вже через 3 місяці лікування. У хворих 3 групи інтенсивність процесів ПОЛ залишалася високою протягом усього стаціонарного етапу лікування.

Для оцінки впливу ГН ВЛОК на динаміку окремих білкових фракцій порівнювали кількісні дані відповідної білкової фракції та дані, отримані в динаміці лікування та по завершенню лікування. Кількість білка кожної смуги визначали за допомогою програми Gel Pro 3.1, яка оцінювала процентне відношення даного білку до цілого спектра зразка.

Аналіз динаміки електрофоретичного спектру білків еритроцитарних мембран під дією гелій-неонового ВЛОК крові людей, хворих на туберкульоз, показав достовірне збільшення площ смуг 3 та 6.

Проведені дослідження свідчать про безпечність і доцільність застосування ГН ВЛОК у комплексній хіміотерапії деструктивних форм туберкульозу легень.

Орлова А., Мандзинець С., Бура М.

ХАРАКТЕРИСТИКИ Na^+, K^+-АТФАЗИ УПРОДОВЖ РАННЬОГО ЕМБРІОГЕНЕЗУ ЗАРОДКІВ В'ЮНА

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна
mcelevych@yahoo.com

У мікросомальній фракції мембран зародкових клітин в'юна (*Misgurnus fossilis* L.), на різних стадіях поділу бластомерів, виділених методом диференційного центрифугування у градієнті сахарози, було досліджено Na^+, K^+-активовану, Mg^{2+}-залежну АТФазну активність. Зародки попередньо гомогенізували у буферному розчині, який мав такий склад (ммоль/л): сахароза – 120,0; KCl – 130,0; $MgCl_2$ – 5,0; Tris-HCl – 10,0 (pH 7,4; 4^oC). Рештки зародкового жовтка осаджували центрифугуванням упродовж 10 хв при 1600 g. Надосадову рідину, збагачену фрагментами плазматичної та ретикулярної мембран одержану після центрифугування 10 хв при 10 000 g, зберігали при температурі -20^oC. До стандартного середовища інкубації вносили ЕГТА (для зв'язування екзогенних іонів Ca^{2+}) та селективні інгібітори АТФ-гідролазних систем плазматичної мембрани й субклітинних структур (мітохондрій та ендоплазматичного ретикулуму):

азид натрію (інгібітор АТФази мітохондрій та Ca^{2+}, Mg^{2+}-АТФази плазматичної мембрани) й тапсигаргіну (інгібітор транспортної Ca^{2+}, Mg^{2+}-АТФази ретикулуму). Для визначення Na^+, K^+–АТФазної активності до середовища інкубації додавали 1 мМ уабаїну. Застосування селективних інгібіторів показало, що внесок інших АТФазних систем у загальний гідроліз АТФ протягом синхронних поділів бластомерів є досить вагомим – 27÷30%.

Встановлено, що активність Na^+, K^+-активованої, Mg^{2+}-залежної АТФази зародків в'юна у нормальних умовах зростає протягом ранніх етапів ембріогенезу. Подібні результати були отримані Леонгом на зародках морських їжаків при вивчені характеру змін Na^+, K^+-АТФазної активності зародків. На стадії 2 бластомерів активність цього ферменту плазматичної мембрани зародків становила 14,51±0,55 мкмоль P_i/год на 1 мг білка (n=10). Протягом наступних 5-ти годин розвитку зародків уабаїнчутлива АТФазна активність плазматичних мембран зародків поступово зростала і досягала максимального значення на стадії 8 поділу. На стадії 10 поділу бластомерів спостерігалося незначне, однак достовірне зниження Na^+, K^+–АТФазної активності зародків.

Дослідження катіонної специфічності відносно іонів Mg^{2+} показало, що величину Me^{2+}-залежної АТФ-гідролазної активності мікросомальної фракції мембран зародків можна відобразити наступними рядами: $Mg^{2+}>Co^{2+}>Cd^{2+}> Cu^{2+}>Zn^{2+}>Mn^{2+}\geq Ni^{2+}>Ba^{2+}>Li^+$.

Залежність активності досліджуваного ферменту зародкових клітин від концентрації нуклеозидтрифосфату (у даному випадку АТФ) є двофазною, практично на всіх досліджуваних стадіях розвитку зародків. Виявилося, що K_m ферменту дещо відмінні, однак близькі за значеннями (у діапазоні ≈ 2,5÷4,5 мкМ) до тих, які характеризують АТФ-залежне транспортування Ca^{2+} везикулами клітин печінки щурів. Na^+, K^+-АТФаза зародкових клітин в'юна характеризується досить високою спорідненістю до АТФ, це свідчить про наявність у молекулі ферменту відповідних каталітичних центрів.

Встановлено, що оптимум pH для Na^+, K^+-АТФази зародків в'юна лежить у межах 7,0÷7,5 на усіх досліджуваних стадіях, а залежність між активністю АТФази та pH середовища набуває куполоподібного характеру. Вважаємо, що такий характер залежності активності мембранного ферменту зародків залежить від швидкості зв'язування субстрату реакції з активним центром ферменту за різних значень pH, ймовірно, зумовлений появою в молекулах АТФази ділянок із різною спорідненістю до нуклеозидтрифосфату на різних стадіях ембріогенезу. Крім цього, максимальну початкову швидкість (V_o) АТФ-гідролазної реакції зародків виявлено за присутності 500 мкг білка/мл на досліджуваних стадіях поділу розвитку. Такі зміни активності мембранозв'язаного ферменту зародків пов'язані також з підвищенням інтенсивності експресії молекул ферментів упродовж раннього ембріонального розвитку зародків.

Пожидаєва Г., Доценко О.

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ КАЛЬЦІЮ ТА ФОСФОРОРГАНІЧНИХ СПОЛУК У ПРОЦЕСАХ МОДИФІКАЦІЇ СТРУКТУРИ БІЛКІВ ЦИТОСКЕЛЕТУ ЕРИТРОЦИТІВ ПІД ДІЄЮ АЛЛОКСАНУ

Донецький національний університет
вул. Щорса, 46, м. Донецьк, 83050, Україна
dots_don@ukr.net

Чинником, що визначає спрямованість реакції клітини на дію зовнішніх факторів, є фазові золь-гель переходи колоїдних структур клітини. Фактори, що параметрично впливають на золь-гель переходи (кальцій цитозолю, циклічні нуклеотиди, АФК), можуть різко підвищувати чутливість клітини до дії зовнішніх фізичних і хімічних чинників. Дослідження поведінки еритроцитарного пулу АТФ в умовах дії на них фізіологічно-активних речовин має важливе теоретичне і прикладне значення. Біологічне і функціональне значення АТФ в аспекті проблеми, що розглядається нами, передусім виражається в тому, що цитоплазматичний пул нуклеотидів бере безпосередню участь у збиранні і деполімеризації білків цитоскелету, тобто бере участь в тих процесах регуляції стану цитоскелетних і цитозольних білків, які забезпечують переходи клітинної цитоплазми в напрямку гель - золь. Переходи цитоскелетних і цитозольних білків гель - золь у цитоплазмі клітин дуже чутливі до зміни концентрації Ca^{2+}, і її підвищення веде до деполімеризації актинового гелю.

Мета роботи полягала в оцінці вкладу деяких регуляторних систем (Ca^{2+}, АТФ, 2,3-ДФГ), що беруть участь у модуляції фізико-хімічного стану білків цитоскелету в клітині, за дії на них хімічних речовин (алоксану).

Об'єктом дослідження були еритроцити здорових донорів, які виділяли з крові за стандартними методиками. Пасту еритроцитів використовували для приготування суспензії, з вмістом гемоглобіну 1,2-1,5 мг/мл. Досліджували метаболізм еритроцитів у процесі їхнього виснаження в середовищі без глюкози, а також у середовищах, що містили змінну кількість іонів Ca^{2+} (1,300 мкмоль, 1,10 мМ). Концентрацію алоксану в середовищі інкубації варіювали від 10^{-4} М до 10^{-10} М. Суспензію еритроцитів з добавками різних доз алоксану, що не містила іони Ca^{2+}, інкубували при 37°С впродовж 3-х годин. В експериментах із вивчення впливу іонів Ca^{2+} на метаболізм еритроцитів експериментальні точки, що містили постійну кількість алоксану і змінну Ca^{2+}, інкубували впродовж 1-ї години. Як контроль використовували пробу, що не містила алоксан.

Отримані експериментальні дані зміни внутрішньоклітинних концентрацій АТФ, 2,3-ДФГ і неорганічного фосфату еритроцитів, що інкубували в середовищах різного складу. Встановлено, що є особлива двофазна залежність рівня АТФ в еритроцитах від часу інкубації у присутності різних доз алоксану. В експерименті зафіксовано вірогідне зміщення максимального рівня АТФ в еритроцитах у бік збільшення часу інкубування при зниженні концентрації введеного алоксану. Аналізуються залежності вмісту неорганічного фосфату та 2,3-ДФГ залежно від дози алоксану та часу інкубування.

Отримані залежності вмісту АТФ, 2,3-ДФГ та неорганічного фосфату від концентрації позаклітинного кальцію при фіксованій концентрації алоксану. Отримані гістерезисні залежності зміни концентрації АТФ від вмісту іонів кальцію в середовищі інкубування. Показаний взаємозв'язок рівня АТФ, 2,3-ДФГ, неорганічного фосфату в еритроцитах, що перебували у середовищі різного складу.

У доповіді зроблений аналіз ролі іонів Ca^{2+}, білків, що зв'язують кальцій, і алоксану у фазових золь-гель переходах, спрямованих на регуляцію клітинних процесів і стабілізацію рівня АТФ.

Поліщук І., Бура М., *Яремкевич О., Мандзинець С., *Новіков В., *Лубенець В., Санагурський Д.

ПРОТЕКТОРНИЙ ЕФЕКТ ВПЛИВУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ ТІОСУЛЬФОНТІВ КАЛІЮ НА МЕМБРАНОІНДУКОВАНІ ПРОЦЕСИ В ЕМБРІОГЕНЕЗІ ЗАРОДКІВ В'ЮНА

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна
mcelevych@yahoo.com
**Національний університет «Львівська політехніка»,*
вул. С. Бандери, 12, Львів, 79013, Україна
ilenkova@polynet.lviv.ua

Тіосульфонати володіють широким спектром протимікробної та біологічної активної дій, вони запропоновані як лікарські засоби, пестициди, консерванти фруктів та овочів. Перспективним є використання естерів тіосульфокислот як індивідуальних сполук, так і у вигляді співполімерів для захисту від біопошкоджень. Враховуючи практичну цінність тіосульфонатів з одного боку і гетеро- та карбоциклічних фрагментів з іншого, поєднання їх в одній молекулі є, без сумніву, позитивним фактором, який дозволяє одержати сполуки з новим спектром біологічної дії. До теперішнього часу методи їх синтезу та властивості практично не досліджені, тому особливо актуальним є вивчення їхньої біологічної дії.

У роботі досліджували вплив параамінобензолтіосульфонату і толуентіосульфонату калію на мембранозалежні процеси у ранньому ембріогенезі зародків в'юна – активність Na^+, K^+–АТФази (в умовах *in vitro* та «*in vivo*»), динаміку трансмембранного потенціалу (ТМП), морфологію та ультраструктуру зародків за наявності в середовищі інкубації досліджуваних тіосульфонатів.

Тіосульфонати у високих концентраціях (4000 мкМ) хоч і є модуляторами активності АТФази зародків, однак їхній інгібувальний ефект упродовж раннього розвитку є вагомим, і ферментативна активність Na^+, K^+-помпи не може повністю відновитися до початкового

рівня. Однак додавання до середовища тіосульфонат калію у низькій концентрації (0,004 мкМ) веде до відновлення активності Na^+, K^+-АТФази зародків до рівня контролю. Ймовірно, тіосульфонати можуть включатися в ті ланки метаболізму зародків, які безпосередньо пов'язані зі синтезом та формуванням бластодерм зародків, що й призводить до порушення функціонування систем мембранного транспорту. При дослідженні ТМП зародкових клітин за дії тіосульфонатів (40 мкМ) простежуються зміни в амплітуді, періоді коливань порівняно з контролем спостерігається очевидний зсув у наростанні максимальних значень рівня ТМП, що свідчить про часткові порушення іонних транспортних систем у мембранах, які лежать в основі всіх коливань потенціалу.

Морфологічні дослідження зародків в'юна, інкубованих у середовищі за присутності толуентіосульфонату і парааміннобензолтіосульфонату калію (4000 мкМ) протягом двох діб розвитку, суттєвих змін у формуванні зародкових шарів і затримки розвитку не показали.

При проведенні електронно-мікроскопічних досліджень встановлено суттєві метаболічні зміни, пов'язані з наявністю великої кількості збільшеного розміру травних вакуоль з нечіткою мембраною. Відшарування цитоплазми, пов'язане передусім з легким прониканням самої речовини в клітину, про що свідчить також розрідження цитоплазми та набряк зародків. Деструкція мітохондріальних мембран, можливо, пов'язана з частковим посиленням перекисного окиснення ліпідів, власне за рахунок активації ферментів антиоксидантної системи. Відомо, що в патології клітини важливу роль відіграє також інактивація іонтранспортних ферментів, в активний центр яких входять тіолові групи, в першу чергу, АТР-гідролази. Інактивація таких ферментів призводить до сповільнення «викачування» іонів кальцію або натрію з клітини, і, навпаки, - до збільшення внутрішньоклітинних концентрацій цих іонів і пошкодження клітин.

Робота виконувалась за підтримки Державного фонду фундаментальних досліджень, проект № Ф25.5/075.

Романюк М., Яремчук М., Мандзинець С., Бура М., Санагурський Д.

ЗАЛЕЖНІСТЬ АКТИВНОСТІ Na^+, K^+-АТФАЗИ ЗАРОДКОВИХ КЛІТИН В'ЮНА MISGURNUS FOSSILIS L. ВІД ВМІСТУ ІОНІВ НАТРІЮ ТА КАЛІЮ В СЕРЕДОВИЩІ *IN VITRO*

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005
myrosik.R @gmail.com

Відомо, що внутрішньоклітинне та зовнішнє середовища значно відрізнюються між собою за складом, особливо за співвідношенням катіонів натрію та калію. Іонна асиметрія використовується для генерації збудження у нервових і м'язових клітинах, а також є рушійною силою для роботи білків-переносників, які здійснюють транспорт амінокислот і цукрів в клітину. Зміни Na^+, K^+-АТФазної активності мембран також характеризуються періодичністю і тісно пов'язані з метаболічними процесами, які відбуваються у цитоплазмі зародкових клітин.

Створення градієнта концентрації іонів натрію і калію по обидва боки мембрани здійснюється активним транспортом цих іонів проти їх електрохімічних градієнтів спеціальним ферментом – Na^+, K^+-АТФазою, яка використовує енергію макроергічних зв'язків АТФ.

Натрій – основний катіон позаклітинної рідини, який підтримує осмотичний тиск, визначає рух води, бере участь у регуляції кислотно-лужного балансу, нервово-м'язового збудження та його передачі.

Калій - основний внутрішньоклітинний іон. У процесі функціонування клітин надлишковий калій виходить із цитоплазми, тому для збереження концентрації він повинен нагнітатися назад за допомогою натрій-калієвої помпи. Клітини активно нагромаджують калій і виводять у позаклітинне середовище іони Na^+.

Активний транспорт іонів проти їх концентраційного градієнта залежить від наявності в клітині АТФ. Використовує цю енергію для реалізації активного транспорту одновалентних іонів через клітинну мембрану спеціальний фермент - Na^+, K^+-АТФаза. Вона являє собою складний білок, вбудований у зовнішню мембрану клітини і має центри зв'язування для іонів натрію та калію, а також активний центр, де здійснюються зв'язування та гідроліз АТФ.

На активність Na^+, K^+-АТФази істотний вплив здійснюють багато факторів, зокрема співвідношення іонів Na^+ та K^+, кількість вільного АТФ, pH, температура і ін. Результати досліджень з впливу різних концентрацій іонів Na^+ та K^+ на активність загальної Na^+, K АТ-Фази, показують, що іони натрію і калію зумовлюють активуючу дію на активність АТФази в різних діапазонах концентрацій.

Тому детальне дослідження активності цього ферменту зародкових клітини прісноводної риби в'юна *Misgurnus fossilis* L. у період раннього ембріогенезу за різної концентрації іонів Na^+ та K^+ є актуальним і перспективним для молекулярної біофізики. Це дасть можливість поглибленого розуміння окремих кінетичних особливостей, механізмів активації та інактивації ферменту Na^+, K^+-АТФази при дослідженні зародкових об'єктів.

Собко В., Мартинюк В.

МОДИФІКУЮЧИЙ ВПЛИВ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ПОЛЯ ЧАСТОТОЮ 8 ГЦ НА ПЕРЕКИСНЕ ПОШКОДЖЕННЯ ТИМОЦИТІВ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01033, Україна
svitya@ua.fm

Досліджували кількісний вміст життєздатних, некротичних і апоптичних клітин у суспензії тимоцитів після дії пероксиду водню та електромагнітного поля частотою 8 Гц, як окремих чинників, так і при їхній комбінації.

Визначено морфологічні особливості апоптуючих клітин, а також вміст живих, некротичних і апоптуючих клітин у суспензії ізольованих тимоцитів щурів після годинної та тригодинної інкубації з 0,1мМ пероксидом водню та при впливі 8 Гц, як окремих, так і комбінованих впливів, методом подвійного прижиттєвого фарбування клітин за допомогою флуоресцентних барвників - Hoechst-33258 та пропідіум йодид.

Виявлено апоптогенний ефект пероксиду водню, як моновпливу, так і в поєднанні з дією 8 Гц. Встановлені особливості динаміки некротичних і апоптичних процесів, зокрема, динаміка конденсації хроматину, фрагментації ядра й утворення апоптичних тілець.

Встановлено, що вплив електромагнітного поля частотою 8 Гц у комбінації з дією пероксиду водню на суспензію тимоцитів призводить до збільшення кількості апоптуючих клітин, у яких спостерігається конденсація хроматину. На цьому фоні має місце тенденція до зниження рівня некрозу у відповідь на перекисне пошкодження при дії 8 Гц. У загальному можна припустити, що вплив 8 Гц певною мірою активує запуск механізмів апоптозу, але як захисну відповідь на перекисне пошкодження, знижуючи рівень некротичного пошкодження.

Соколик О.[1], Перевєрзєв М.[2], Козін Ю.[3], Дюбко Т.[4]

ЗАСТОСУВАННЯ НОВИХ ФЛУОРИСЦЕНТНИХ БАРВНИКІВ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕРИТРОЦИТІВ АПВРАТУРНИМИ МЕТОДАМИ

[1] ДНУ НТК "Інститут монокристалів НАН України", пр. Леніна, 60, Харків, 61001, Україна
[2] Харківський національний університет ім. В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, 61077, Україна
[3] Харківський національний медичний університет, пр. Леніна, 4, Харків, 61022, Україна
[4] Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, м. Харків, 61015, Україна
tdyubko@mail.ru

Оцінка стану компонентів крові, зокрема еритроцитів, у пацієнтів при проведенні процедур озонотерапії є важливою для визначення ефективності лікування.

Метою роботи було дослідження впливу процедур озонотерапії на червоні клітини крові хворих з різними типами урогенітальних інфекцій і супутніх захворювань із застосуванням сучасних методів флуоресцентного аналізу (лазерна конфокальна флуоресцентна мікроскопія (ЛКФМ), проточна цитофлуориметрія (ПЦФ) тощо) і флуоресцентних барвників. Оскільки для вирішення завдання поряд з відомими флуоресцентними барвниками було застосовано нові (С13-4, МНБІС, АВМ і його похідні АВМ-4, АВМ-6, АВМ-8), необхідно було також дослідити їхні спектральні властивості (фотостабільність, спектри поглинання і флуоресценції) у водних розчинах і при зв'язуванні з еритроцитами. Було досліджено ерит-

роцити, отримані у пацієнтів 1) одразу після змішування аутокрові in vitro з озонованим фіз. розчином (ОФР); 2) після внутрішньовенного вливання ОФР; 3) після проведення процедури ВАГОТ (велика аутогемоозонотерапія).

За допомогою ЛКФМ встановлено, що у крові пацієнтів, які страждають урогенітальними захворюваннями, до процедур озонотерапії спостерігається значна кількість пошкоджених еритроцитів («тіней»), яка корелює з достатньо високим рівнем спонтанного гемолізу клітин (до 20%). Після проведення процедур озонотерапії (ОФР чи ВАГОТ) якісний склад червоних клітин крові поліпшується. Суттєво знижується кількість "тіней", що відповідає зниженню гемолізу до 1-2%. При цьому ВАГОТ спричиняє більший вплив на ці процеси порівняно з ОФР. З використанням методу ПЦФ показано, що процедури озонотерапії змінюють морфологічні характеристики популяції еритроцитів у напрямі наближення до нормальних показників.

Усі флуоресцентні барвники, які було використано в дослідженні, зв'язуються з мембранами еритроцитів і придатні для їх вивчення. У той же час вони суттєво відрізняються за показниками квантового виходу і фотостабільності. Найбільш фотостабільними виявилися барвники С13-4 і АВМ-8. Прийнятну фотостабільність має також зонд МНБІС. Останні два барвники також мають найбільший квантовий вихід при зв'язуванні з мембранами еритроцитів, що дає змогу рекомендувати їх для використання в апаратурних методах аналізу червоних клітин крові.

Стецина Ю., Бура М., *Яремкевич О., *Заїченко О., Мандзинець С., Санагурський Д.

АНАЛІЗ ВПЛИВУ ПОЛІМЕРУ НА ЗМІНУ АКТИВНОСТІ АТФ-ГІДРОЛАЗИ ЗАРОДКІВ В'ЮНА ВПРОДОВЖ ЕМБРІОГЕНЕЗУ

Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна
mcelevych@yahoo.com
**Національний університет «Львівська політехніка», вул. С. Бандери, 12, Львів, 79013*
ilenkova@polynet.lviv.ua

У сучасній медичній практиці особлива увага приділяється полімерам, які здатні впливати на обмінні процеси в клітинах, органах або в організмі загалом. Використання таких біологічно активних полімерів (БАП) із вказаними властивостями є перспективним напрямом у створенні нових лікарських субстанцій. Безумовно, особливу зацікавленість викликає створення водорозчинних полімерних препаратів, що мають можливість транспортувати лікарські речовини до органа-мішені, забезпечувати при цьому пролонгуючу дію та позитивний терапевтичний ефект. Одним із таких новосинтезованих полімерів (на кафедрі органічної хімії НУ „ЛП") є поверхнево-активний полімер (ПАР) – *N*-вінілпіролідон (*N*ВП)-вінілацетат-(ВА)-малеїновий ангідрид (МАНГ) (1:1:1).

Зародки риб у період раннього ембріогенезу є адекватною тест-системою для дослідження впливу різних фармакологічних і хімічних чинників на біологічні організми, тому мета роботи полягала у з'ясуванні впливу 0,1 й 100 мкМ досліджуваного ПАР на мембранозв'язані процеси *in vitro*, в даному випадку, на сумарну Ca^{2+}, Mg^{2+}-АТФазну активність зародків на різних етапах ембріогенезу (стадії 2, 16, 64, 256 та 1052 бластомерів).

У результаті проведених досліджень виявлено, що *N*ВП-ВА-МАНГ у концентрації 0,1 й 100 мкМ на стадії 2 бластомерів призводить до зниження активності мембранозв'язаного ферменту порівняно з контролем на 48,8±2,7 та 64,2±7,3% відповідно. За наявності в середовищі інкубації *N*ВП-ВА-МАНГ на двох наступних досліджуваних стадіях розвитку спостерігали менш виражені зміни активності сумарної Ca^{2+}, Mg^{2+}-АТФази. На стадії 8 поділу бластомерів при дії 100 мкМ *N*ВП-ВА-МАНГ спостерігається незначне достовірне зниження активності Ca^{2+}, Mg^{2+}-АТФази зародків до 6,3±0,2 мкмоль P_i/год на 1 мг білка. При подальшому зменшенні концентрації в середовищі інкубації не виявлено зниження активності АТФази.

На стадії 10 поділу падає мітотичний індекс і зростає морфогенетична активність ядер, а всі біосинтетичні процеси потребують перерозподілу пулів макроергів. Враховуючи структуру полімеру, ймовірно, в цей період проходить полегшене вбудовування полімеру в плазма-

тичну мембрану зародків, що й призводить до часткового активування роботи АТФази. За таких умов виявлено незначне підвищення активності досліджуваного ферменту зародків на 1,7±0,2% порівняно з контролем за дії 0,1 мкМ поверхнево-активного полімеру, і за таких умов становила 8,0±0,3 мкмоль P_i/год на 1 мг білка (порівняно зі значенням у контролі – 7,9±0,6 мкмоль P_i/год на 1 мг білка). Тоді як дія 100 мкМ *N*ВП-ВА-МАНГ призводила до вірогідного зниження активності АТФази на 21,8±0,6% порівняно з контролем.

Таким чином встановлено, що як і Na^+, K^+-АТФаза (у попередніх дослідженнях), так і Ca^{2+}, Mg^{2+}-АТФаза є чутливими до динамічних процесів перебудов мембран зародків на пізніших стадіях поділу бластомерів. Дія БАП *N*ВП-ВА-МАНГ (0,1 мкМ) веде до взаємопротилежних змін активності мембранозв'язаного ферменту зародків – на стадії 10 поділу бластомерів виявлено недостовірне зростання Ca^{2+}, Mg^{2+}-АТФазної активності зародків порівняно з контролем. Отже, *N*ВП-ВА-МАНГ можна віднести до біологічно активних факторів, котрі здатні модулювати у низьких концентраціях мембранозалежні процеси зародків у ембріогенезі.

Робота виконувалась за підтримки Державного фонду фундаментальних досліджень, проект № Ф25.5/075.

Темник М., Романюк М., Мандзинець С., Головчак Н., Бура М.

МЕМБРАНОЗАЛЕЖНІ ПРОЦЕСИ ЗАРОДКІВ В'ЮНА ЗА УМОВ ВПЛИВУ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна
mcelevych@yahoo.com

На сьогодні в медицині дедалі більша увага приділяється активації життєвих процесів при лазерному опроміненні, яку називають терміном *біостимуляція.* Ефекти впливу He-Ne лазерного випромінювання (НІЛВ) досліджували на багатьох біологічних об'єктах на молекулярному, клітинному та органному рівнях, поряд із тим, механізми біологічної дії лазерного випромінювання вивчені недостатньо. Окрім того, на сьогодні нез'ясованим є вплив НІЛВ на зародкові об'єкти. Тому метою нашого дослідження було проаналізувати залежність дози випромінювання лазера на інтенсивність мембранозалежних процесів (транспорту, антиоксидантної системи, перекисного окислення ліпідів) зародків в'юнів різних етапів розвитку.

Дослідження проводили на зародках в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) через 60, 210, 330 хв після запліднення яйцеклітин під час стадій, які відповідають першому дробленню зиготи (2 бластомери), шостому (64 бластомери), десятому (512 бластомерів). Ікру одержували через 36 год після стимуляції та запліднювали в чашках Петрі суспензією сперміїв за Нейфахом [10]. Після запліднення зиготи опромінювали He-Ne лазером з довжиною хвилі 632,8 нм (час опромінення становив: 1 хв, 3 хв та 5 хв, після чого зиготи залишали розвиватися), за допомогою світловода (діаметр вихідної лінзи 1,2 мм), який містився на відстані 1 см від пробірки, з густиною потоку 1,5×102 Вт/м^2; стадії розвитку контролювали візуально під бінокулярним мікроскопом МБС-9.

Мембранозалежні процеси зародків в'юна, які розвивалися, оцінювали за станом активності транспортних ферментів (Na^+, K^+- та Ca^{2+}-АТФази, за модифікованим методом Фіске-Суббароу) та ферментів антиоксидантної системи – супероксиддисмутази (СОД, за методом В.А. Костюка) й каталази (КАТ, за методом М.А. Королюка); інтенсивність процесів ПОЛ за вмістом вторинного продукту ліпопероксидації – малонового диальдегіду (МДА, використовуючи метод Р.Р. Тимирбулаєва).

У результаті проведених досліджень встановлено, що однохвилинне опромінення лазером з довжиною хвилі 632,8 нм призводить до порушення природного вмісту МДА, активностей ферментів транспортних і антиоксидантної систем зародків в'юна на всіх досліджуваних стадіях розвитку. Ці результати підтверджуються даними літератури щодо інтенсифікації процесів ПОЛ при однохвилинному опроміненні зародкових клітин. 3-хвилинне опромінення не спричинює зміни процесів ліпопероксидації, та навіть активує захисні властивості клітини, які проявля-

ються у стабільності активності Na^+, K^+-АТФази за дії досліджуваного чинника *in vitro*. При експозиції 5 хв НІЛВ викликає достовірне підвищення вмісту МДА (на 13% відносно контролю) лише на етапі двох бластомерів. Ймовірно, ранні етапи розвитку зародка є чутливими до такої високої дози опромінення. Вплив He-Ne лазерного випромінювання тривалістю 1, 3 та 5 хв призводить до зниження активності Ca^{2+}-АТФази *in vivo* порівняно з контролем на усіх досліджуваних стадіях розвитку зародків. Встановлено також, що вплив НІЛВ тривалістю 5 хв призводив до появи деформованих бластомерів, котрі втрачають контакти з сусідніми зародковими клітинами, що у свою чергу призводить до затримки розвитку зародків.

Таким чином, встановлено, що позитивна стимулююча дія НІЛВ проявляється, як правило, у вузькому інтервалі доз, а потім зникає або навіть змінюється негативною дією. У нашому випадку найкращою дозою, яка не призводила до значних змін мембранозалежних процесів у ранньому ембріогенезі, була доза 3 хв.

Ткаченко В.

ВПЛИВ НИЗЬКОЧАСТОТНОЇ ВІБРАЦІЇ НА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ МЕТАБОЛІЗМ ЕРИТРОЦИТІВ ЛЮДИНИ

Донецький Національний університет, вул. Щорса, 46, м. Донецьк, 83050, Україна
Fragaria_mosch@mail.ru

Вивчення часової динаміки процесів на клітинному та молекулярному рівні може бути використано для діагностики захворювань організму людини і їх лікування. Механізми розвитку хвороб пов'язані з порушенням обміну речовин і мікроструктури клітин. Головною умовою метаболізму речовин залишається енергетичний обмін, тому що енергетичний статус клітини має важливе значення для її життєдіяльності. Порушення клітинного енергообміну призводить до клітинних проявів, які залежать від ступеня ураження патологічним процесом тканин і органів (Аршиннікова Л.Л., Арутюнова К.Ш., Антощенко Л.І., 2007). Це свідчить про те, що однією з умов нормальної життєдіяльності еритроцита є підтримка внутрішньоклітинного рівня АТФ. Окрім того, АТФ останнім часом відводять важливу роль у підтримці мікроструктури клітин, а саме — фазового стану цитоплазми клітини. Цитоплазма клітини містить сітку повнорозгорнутих сильно заряджених білків (Ling, 2008), при зв'язуванні з якими АТФ здійснює ключовий вплив на характер метастабільного кооперативного стану всіх груп даних білків і їх функціональну активність. Локальне зв'язування АТФ стимулює упорядкування, а саме призводить поруч розташовані білки в їх розгорнуті конфігурації, а оточуючу воду — в структурований стан, у результаті чого цитоплазма перебуває у стані гелю (Лобишев В.І., 2007). Зниження концентрації АТФ у клітині буде ініціювати зворотний процес — перехід у стан золю, наслідком чого є порушення іоного гомеостазу клітини і активності внутрішньоклітинних ферментів. Участь води у створенні єдиного водно-ліпідно-білкового комплексу клітини і її сенсорна здатність реагувати на слабкі, у тому числі й механічні впливи, визначає її функцію перетворення слабких зовнішніх сигналів на зміну стану активності киснезалежних реакцій у клітині (Загускін С.Л., 2005).

На сьогодні практично недослідженими залишаються реакції клітинних і молекулярних структур на механічні впливи, зокрема, вібрацію як фактор, який має високу біологічну активність. У зв'язку з цим мета даної роботи полягала у вивченні впливу низькочастотної вібрації на зміну вмісту АТФ в еритроцитах людини.

Відмиті від плазми еритроцити ресуспендувались у середовищі, яке не містило глюкози (0,05 М трис-HCl, pH 7,4 + 0,15 М NaCl буфер, який містить 0,15 моль NaCl) з метою блокування гліколізу. В подальшому суспензію піддавали дії низькочастотної вібрації в інтервалі частот 8÷32 Гц з амплітудами 0,5±0,04 и 0,9±0,08 мм протягом 3-х годин. Кожні 30 хвилин визначали рівень АТФ у попередньо гідролізованих пробах. Як контроль були використані залежності зміни вмісту АТФ в еритроцитах, інкубованих у тому самому середовищі, але без дії вібрації.

Аналіз вмісту АТФ в еритроцитах, що піддавалися дії низькочастотної вібрації, показав, що зміна вмісту АТФ залежить від частоти і амплітуди вібрації. В еритроцитах, що піддавалися вібрації з амплітудою 0,5±0,04 мм і частотами від 8 до 24 Гц, реєструється зниження вмісту АТФ протягом усього експерименту. Збільшення частоти вібрації до 32 Гц призводить до того, що концентрація АТФ збільшується вже після 30-хвилинного впливу вібрації.

Вібраційний вплив з амплітудою 0,9±0,08 мм призводить до різкого збільшення вмісту АТФ на частотах від 8 до 24 Гц, а після — до подальшого зниження її концентрації. Також на частотах 28 і 32 Гц зниження концентрації АТФ відсутнє.

Розглядається механізм впливу низькочастотної вібрації на вміст АТФ в еритроцитах людини і пов'язані з цим процеси деструктурування внутрішньоклітинної води і зміни активності внутрішньоклітинних ферментів.

Щербина Н., Доценко О.

ВПЛИВ НИЗЬКОЧАСТОТНОЇ ВІБРАЦІЇ НА РЕДОКС-ГОМЕОСТАЗ ЕРИТРОЦИТІВ

Донецький національний університет, вул. Щорса, 46, м. Донецьк, 83050, Україна
sopran4ik@mail.ru

Підтримання редокс-стану в межах норми всередині клітини відіграє важливу роль у її функціонуванні. Змінення редокс-стану внутрішньоклітинного вмісту та окремих молекул внаслідок стресового впливу або в результаті активності самих клітин, залучено до регуляції клітинних процесів. Особливу роль у регуляції клітинної активності відіграє перекис водню (H_2O_2). Це пов'язано з тим, що перекис водню достатньо стабільний. Він продукується клітинами як побічний продукт метаболізму та легко потрапляє до клітини крізь біологічні мембрани, що дозволяє йому брати участь як у внутрішньоклітинній, так і в міжклітинній сигналізації. Один із шляхів, яким H_2O_2, як і інші активні форми кисню, може брати участь у регуляції, – це зміна внутрішньоклітинного редокс-статусу клітини за рахунок окислення молекул (наприклад, глутатіону). Здатність тіолдисульфідної системи динамічно реагувати як на сильний, так і на слабкий зовнішній вплив та змінами свого окислювально-відновлювального стану безпосередньо впливати на життєво важливі біохімічні та фізіологічні процеси, робить доцільним і перспективним аналіз її стану з метою визначення та оцінювання інтенсивності біологічного впливу екстремальних факторів зовнішнього середовища та вивчення механізмів їхньої дії.

У зв'язку з вище сказаним, метою роботи було дослідження впливу низькочастотної вібрації на редокс-стан еритроцитів.

В експерименті використовували свіжу кров донорів однієї статі та приблизно однієї вікової групи. Еритроцити відділяли від плазми й інших складових елементів крові за стандартними методиками. Суспензію еритроцитів, з вмістом гемоглобіну 0,62±0,06 мг/мл, піддавали впливу низькочастотної вібрації з частотами 8, 12, 16, 20, 24, 28 та 32 Гц, амплітудами 0,5±0,04 та 0,9±0,08 мм упродовж трьох годин. Вміст H_2O_2, відновленого глутатіону та SH-груп у внутрішньоклітинних білках еритроцитів визначали до початку експерименту та кожні 15 хвилин під час вібраційного впливу. Вміст H_2O_2 визначали з FOX-реактивом, вміст відновленого глутатіону та SH-груп – з реактивом Елману.

У роботі отримані частотно-амплітудні залежності зміни внутрішньоклітинних концентрацій H_2O_2, відновленого глутатіону та SH-груп внутрішньоклітинніх білків. Показано, що низькочастотна вібрація у вказаному інтервалі частот и амплітуд приводить до накопичення H_2O_2 в еритроцитах, наслідком чого є зниження вмісту відновленого глутатіону та SH-груп білків. Експериментальні дані свідчать про наявність окисного стресу в клітинах, що піддавалися дії вібрації, який може ініціювати зміни та перебудови у клітині. Показано, що ступінь окисного стресу суттєво залежить від амплітуди вібрації.

У доповіді обговорені можливий механізм дії низькочастотної вібрації на фазовий стан цитоплазми еритроцитів, та наслідки впливу на життєздатність клітин.

Яремкевич О., Бура М.[1], Кулачковський О.[1], Лубенець В., Санагурський Д.[1], Новіков В.

ВПЛИВ ТОЛУЕНТІОСУЛЬФОНАТУ КАЛІЮ НА МЕМБРАННИЙ ПОТЕНЦІАЛ І МЕМБРАНОЗАЛЕЖНІ ПРОЦЕСИ ЗАРОДКІВ В'ЮНА

Національний університет «Львівська політехніка»,
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
ilenkova@polynet.lviv.ua
[1]Львівський національний університет імені Івана Франка, кафедра біофізики та біоінформатики
mcelevych@yahoo.com

Дослідження останніх років показали велику зацікавленість до створення синтетичних аналогів природних біорегуляторів, які поєднують у собі декілька фармакофорів та є одним із перспективних напрямів у створені лікарських препаратів (Filimonov D., 1999).

Синтезовані тіосульфонати є близькими аналогами природного антибіотика аліцину. Ароматичні тіосульфонати є ефективними інгібіторами агрегації тромбоцитів, що є підґрунтям для створення на їхній основі нових антитромботичних препаратів (MacDonald J., 2004). Відомі тіосульфоестери, які проявляють антималярійну й антивірусну дію (Frankenberg L., 1980). Зокрема, гетероциклічні тіосульфонати, що містять кільця індолу, індоліну, бензоімідазолу і хіноксаліну, отримані науковцями з Мічигану, проявили високу ВІЛ-протеазну активність (Prasad V. N. V.*, 2000*).

Виходячи з вищевказаного, подальше дослідження тіосульфонатів є актуальним та перспективним, оскільки це дасть можливість поглибленого розуміння механізмів біологічної дії цих речовин та покращення їх лікувальних властивостей.

Робота полягала у з'ясуванні впливу толуентіосульфонату калію у концентрації $4\cdot10^{5}$ М, на деякі аспекти реакції мембран зародкових клітин прісноводної кісткової риби в'юна *Misqurnus fossilis* L. у період раннього ембріогенезу, зокрема, на трансмембранний потенціал (ТМП), активність Na^{+}, K^{+}-АТФази й ультраструктурні зміни бластомерів зародків в'юна.

У результаті проведених досліджень можна зробити висновок, що дія тіосульфонатів веде до достовірних дозозалежних змін активності мембранозв'язаного ферменту зародків: найбільш інгібувальний вплив виявлено за наявності в середовищі інкубації біологічно активної речовини у концентрації $4\cdot10^{-3}$ М, тоді як внесення у середовище тіосульфонатів низьких концентрацій ($4\cdot10^{-9}$ М) веде до підвищення активності Na^{+}, K^{+}–АТФази зародків порівняно з контролем. Очевидно, у низьких концентраціях ці біологічно активні речовини або їх первинні метаболіти здатні включатись у метаболічні процеси зародків і призводити до підвищення інтенсивності обмінних процесів у зародків.

При дослідженні ТМП зародкових клітин за дії толуентіосульфонату калію у концентрації $4\cdot10^{-5}$ М простежуються зміни в амплітуді, періоді коливань порівняно з контролем та спостерігається очевидний зсув у наростанні максимальних значень рівня ТМП, що свідчить про часткові порушення іонних транспортних систем у мембранах. Це пов'язано з інгібуванням деяких біосинтетичних процесів, а саме, білкових структур, що і призводить до зниження активності мембранного ферменту (Na^{+}, K^{+}–АТФази). Це свідчення підтверджується результатами ультраструктурних досліджень, де спостерігаються зміни субмікроскопічних структур, котрі беруть участь у синтезі білка – змінюється кількість, розміщення й електронна щільність рибосом, відбувається деструкція мітохондрій, що викликає порушення внутрішньоклітинної біоенергетики. Проте, виходячи з цих даних, неможливо зробити висновок про спрямованість та інтенсивність білкового синтезу.

З огляду на вищезазначене, можна стверджувати, що тіосульфонати є перспективними для використання в якості імунодепресантів - цитостатиків, які застосовуються при лікуванні різноманітних імунозалежних захворювань, наприклад, при небажаній або надмірній імунній відповіді. Тому пошук серед тіосульфонатів антимітотичних і антипроліферативних засобів знайде широке застосування як у хіміотерапії онкологічних захворювань, так і при лікуванні аутоімунних патологій.

(*Робота виконана за підтримки Державного фонду фундаментальних досліджень, проект №Ф.25.5/075*)

БІОХІМІЯ / BIOCHEMISTRY

Афанасьєв С.[1], Філяк Є.[2], Стойка Р.[2]

РОЛЬ НОКАУТУ ГЕНА PTTG-1 В РОЗВИТКУ АУТОІМУННИХ ПРОЦЕСІВ У МИШЕЙ

[1]Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
[2]Інститут біології клітини НАНУ
вул. Драгоманова 14/16 м. Львів, 79005, Україна

Секурин (pituitary tumor transforming gene 1, PTTG) є важливим регулятором розходження сестринських хроматид в анафазі мітозу, а також бере участь у процесах репарації ДНК, апоптозі та регуляції диференційної експресії генів. Надекспресію секурину виявлено практично в усіх типах злоякісних пухлин. У нормі експресія гена *pttg-1* виявлена у тканинах із високою проліферативною активністю, зокрема яєчка, тонкому і товстому кишківнику, а також в активованих Т лімфоцитах периферичної крові. Миші з нокаутом гена *pttg-1* є життєздатними та фертильними, проте у них спостерігається гіперплазія тимусу, гіпоплазія в селезінці і яєчку, а також великий відсоток анеуплоїдних клітин у цих органах. У нокаутних за геном *pttg-1*мишей також виявлено тромбоцитопенію з нормальним рівнем мегакаріоцитів. Показано, що нокаут цього гена секурину може зумовлювати порушення регуляції синтезу імуноглобулінів класів M і G1a. У людини ген *pttg-1* міститься в локусі 5q35.1(Entrez Gene, HGNC) чи 5q33.3 (Ensemble). Делеція локусу 5q31-q35 призводить до розвитку 5q-синдрому, для якого характерні мієлодиспластичні зміни та розвиток аутоімунних процесів. Ми припускаємо, що втрата гена *pttg* може відігравати роль в патогенезі 5q синдрому.

Метою наших досліджень було виявити вплив відсутності гену *pttg* на індукований синтез моноспецифічних антитіл і дослідити їх афінність, а також провести дослідження можливого впливу відсутності гена *pttg-1* на виникнення аутоімунних процесів, шляхом аналізу наявності ауто-антитіл у крові мишей з нокаутом по гену *pttg-1*.

Ми виявили що нокаут гена *pttg*-1 спричиняє порушення регуляції продукції антитіл у відповідь на введеня антигену. Мишей імунізували суспензією еритроцитів людини. Забір крові для виявлення антитіл проводили до введення еритроцитів і на 14 та 21 день після введення. Визначення рівня антитіл проводили методом імуноферментного аналізу. У мишей дикого типу спостерігався пік зростання кількості антиеритроцитарних антитіл на 14 день та зменшення кількості антитіл на 21 день. У нокаут них по гену *pttg-1* зростання рівня антиеритроцитарних антитіл спостерігалось як на 14 так і на 21 день. Нами було досліджено специфічність продукованих антитіл. Було виявлено, що антиеритроцитарні антитіла отримані з імунізованих *pttg-/-* володіють значно нижчою афінністю порівняно з антитілами, отриманими з мишей дикого типу.

У мишей з нокаутом гена *pttg-1* був виявлений високий рівень аутоантитіл до дволанцюгової ДНК, тоді як рівень антитіл, специфічних до одноланцюгової ДНК, не зростав. При дослідженні афінності антитіл до нативної дволанцюгової ДНК виявили, що зростання у *pttg-/-* рівня анти-ДНК аутоантитіл, ймовірно, зумовлене зростанням рівня низькоафіних антитіл у той час, як кількість високоафіннних антитіл залишалась однаковою, як у *pttg-/-* так і *pttg+/+* мишей. Також у *pttg-/-* був виявлений значно вищий рівень аутоантитіл до корових гістонів, порівняно з диким типом.

Отже, нокаут гена *pttg-1* спричиняє порушення регуляції продукції антитіл у відповідь на стимуляцію антигеном. Наявність високого рівня аутоантитіл до дволанцюгової ДНК та корових гістонів свідчить про розвиток аутоімунних процесів у нокаутних по гену *pttg-1* мишей.

Марченко М., Кеца О., Біндяк Л.

ВПЛИВ ПОПЕРЕДНЬОГО ОПРОМІНЕННЯ НА ВМІСТ ВІДНОВЛЕНОГО УБІХІНОНУ В МІТОХОНДРІАЛЬНІЙ ФРАКЦІЇ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА ЩУРІВ-ПУХЛИНОНОСІЇВ

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
вул. Коцюбинського, 2, м.Чернівці, 58012, Україна
ketsa80@mail.ru

Убіхінон (коензим Q_{10}, KoQ_{10}) – це тетразаміщений бензохінон, широко розповсюджений у природі. Серед гомологів убіхінону в природі в основному розповсюджені Q_6-Q_{10}, кожний з яких має поліізопреніловий ланцюг із трансконфігурацією. Убіхінон здатен віддати чи

приймати як один, так і два електрони і одночасно захоплювати із середовища протон при перенесенні кожного електрона. Здатність убіхінону віддавати свої електрони наступному переноснику характеризує його коферментну функцію.

За різних умов, які для організму є стресовими, вміст відновленого убіхінону (убіхінолу) може змінюватися, що призводить до зменшення енергетичного потенціалу клітин, зумовлюючи зниження пластичних процесів у організмі і розвиток ендотоксемії.

Враховуючи вище вказане метою роботи було визначити вміст відновленого убіхінону в мітохондріальній фракції пухлинної тканини попередньо опромінених щурів із трансплантованою карциномою Герена.

Результати дослідження вмісту убіхінолу в мітохондріальній фракції пухлинної тканини показали, що етап інтенсивного росту карциноми Герена характеризується підвищенням вмісту убіхінолу в мітохондріальній фракції. Підвищення вмісту відновленого убіхінону в цей період, може мати протективне значення, оскільки убіхінол є потужним антиоксидантом.

Встановлені зміни пояснюють, ймовірно, стійкість пухлинних клітин до токсичної дії протипухлинних препаратів, оскільки відмічена здатність убіхінолу «зменшувати» токсичність лікарських препаратів. Окрім того, відновлена форма убіхінону завдяки своїй здатності приєднувати електрони слугує гарним антиоксидантом, тому підвищення його вмісту може бути пов'язане саме з цією властивістю.

При дослідженні впливу попереднього опромінення на розвиток пухлини в організмі встановлено, що в латентну та логарифмічну фази онкогенезу підвищується вміст убіхінолу в мітохондріальній фракції карциноми Герена порівняно з неопроміненими пухлиноносіями. Таке підвищення вмісту відновленого убіхінону в мітохондріальній фракції в короткі терміни після зняття радіаційного чинника, може розглядатися як реакція мобілізації захисних систем пухлини у відповідь на опромінення поряд з іншими захисними системами клітини.

На термінальному етапі спостерігається зниження відновленого убіхінону у пухлині опромінених щурів, яке набуває значень групи неопромінених пухлиноносіїв. Це може бути наслідком зниження його у внутрішній мембрані мітохондрій, що пов'язано зі зміною структури мембранних білків та ліпідів, а саме з підвищенням конформаційної рухливості молекул білків внутрішньої мітохондріальної мембрани, зміною жирнокислотного складу фосфоліпідів, активацією процесів пероксидного окислення ліпідів, яке призводить до виходу убіхінолу із внутрішньої мембрани мітохондрій у кров'яне русло.

Отже, при дослідженні впливу попереднього опромінення на розвиток пухлини в організмі на початкових етапах онкогенезу спостерігається підвищення вмісту убіхінолу порівняно з неопроміненими пухлиноносіями. На термінальному етапі онкогенезу відмічено зниження відновленого убіхінону в тканині карциноми Герена опромінених щурів, яке набуває значень групи неопромінених пухлиноносіїв.

Болюх Н., Старанко У., Дацюк Л.

ЕРИТРОЦИТИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ВПЛИВУ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО РЕНТГЕНІВСЬКОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ФОНІ ВВЕДЕННЯ ЧЕРВОНОГО ВИНА

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
bhndllab@mail.ru

За дії низькоінтенсивного іонізуючого випромінювання основним фактором ураження формених елементів крові є активація вільнорадикального пероксидного окиснення ліпідів та окисна модифікація макромолекул унаслідок розвитку оксидативного стресу. Хоча високо диференційовані без'ядерні еритроцити і належать до клітин з відносно низькою чутливістю до дії низьких доз радіації, тривалий вплив іонізуючого випромінювання викликає зміни популяційного складу еритроїдних клітин периферичної крові, співвідношення множинних форм гетерогенної системи гемоглобіну і, як наслідок, порушення кисневотранспортної функції. Червоні вина, основними біологічно активними речовинами яких є поліфеноли, володіють вираженими антиоксидантними властивостями і здатні знижувати вплив радіаційно-індукованих метаболітів оксигену на клітини крові.

Метою даної роботи було дослідити ефект введення з питною водою піддослідним тваринам червоного вина «Бастардо» (300 мл/70 кг/добу) на кількісний склад еритроцитів та ретикулоцитів, загальний вміст гемоглобіну і резистентність еритроцитів периферичної крові щурів до дії кислотного гемолітика за дії рентгенівського опромінення у дозі 1 сГр/добу впродовж 30 діб. Піддослідні тварини (70 шт.) були поділені на 4 групи, показники визначали на 10-, 20- та 30-ту доби експерименту (n=7).

Встановлено, що статистично достовірні зміни вмісту еритроцитів у периферичній крові за рентгенівського опромінення наявні лише на 20-ту добу радіаційного впливу, тоді як за введення вина й опромінення піддослідних тварин на фоні введення червоного вина, кількість еритроцитів залишалась у межах контрольних показників. Слід однак відмітити, що відсутність змін кількісного складу еритроцитів периферичної крові за 30-добового рентгенівського опромінення обумовлена адаптивно-компенсаторною реакцією кістково-мозкового кровотворення, оскільки виявлені зміни у вмісті попередників без'ядерних клітин крові – ретикулоцитів. За рентгенівського опромінення уже з 10-ї доби експерименту відсотковий вміст ретикулоцитів периферичної крові поступово знижувався і становив лише 42% від норми при поглинанні сумарної дози 20 сГр. Показовим було стійке зростання вмісту ретикулоцитів у периферичній крові щурів впродовж експерименту при введенні червоного вина, оскільки за радіаційного впливу на фоні введення вина достовірних змін виявлено не було.

При дослідженні загального вмісту гемоглобіну в периферичній крові щурів виявлено достовірне його зниження лише на 20-ту добу радіаційного впливу, обумовлене, ймовірно, виходом у русло крові молодих еритроїдних клітин унаслідок пришвидшеної диференціації та неефективного еритропоезу. У групах тварин, які отримували з питною водою вино та були піддані опроміненню, виявлено незначне підвищення вмісту гемоглобіну впродовж усіх термінів експерименту.

Показано зниження стійкості еритроцитів до дії кислотного гемолітика на 10-ту добу радіаційного впливу, що свідчить про наявність у руслі крові клітин з порушенням структурної організації плазматичних мембран внаслідок вільно-радикального перекисного окиснення ліпідів. При введенні вина піддослідним тваринам еритроцити периферичної крові впродовж експерименту мали підвищену стійкість до дії гемолітика. За введення вина та опромінення кислотна резистентність еритроцитів щурів істотно зростала, перевищуючи контрольні величини, тобто поліфеноли червоного вина запобігали радіаційно-індукованим змінам структурної організації плазматичних мембран еритроцитів.

Бородіна Т., Сенін С., Дворщенко К., Берегова Т., Остапченко Л.

ВПЛИВ МУЛЬТИПРОБІОТИКА «СИМБІТЕР АЦИДОФІЛЬНИЙ КОНЦЕНТРОВАНИЙ®» НА ВМІСТ НЕЙТРАЛЬНИХ ЛІПІДІВ У СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ГІПОАЦИДНОСТІ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Проспект Глушкова,2, корпус 12, м.Київ, 03187, Україна
e-mail: tatyan-borodin@yandex.ru

Значне місце серед хвороб травної системи займають гіпоацидні стани, які розвиваються внаслідок порушення секреції соляної кислоти парієтальними клітинами шлунка. Тривала гіпохлоргідрія призводить до атрофії та метаплазії слизової оболонки шлунка (СОШ) (Cammarota G., 2000). Одним із найнебезпечніших наслідків гіпоацидності є розмноження патогенної мікрофлори у ШКТ, що спричинює патологічні зміни в органах травної системи та розвиток дисбіозів. Важлива роль у клітині належить ліпідам, які виконують будівельну, енергетичну, захисну, регуляторну та інші важливі функції.

У зв'язку з цим метою нашою роботи було дослідити вплив мультипробіотика «Симбітер® ацидофільний концентрований» на вміст нейтральних ліпідів у СОШ щурів за умов тривалої шлункової гіпохлоргідрії.

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

на добу) протягом 28 діб. Щурам другої групи одночасно з введенням ОМ перорально вводили мультипробіотик «Симбітер® ацидофільний концентрований» у дозі 0,14 мл/кг. Як контроль використовували щурів, яким протягом 28 днів вводили внутрішньочеревно 0,2 мл та перорально 0,5 мл води для ін'єкцій. Якісний і кількісний склад нейтральних ліпідів визначали методом тонкошарової хроматографії. Статистичну обробку результатів проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

Показано, що після тривалого введення омепразолу кількісний склад нейтральних ліпідів слизових оболонки шлунка щурів змінювався. Так, вміст вільного холестерину зменшився на 16%, а його ефірів - на 30%, що призвело до зниження співвідношення ефірів холестерину:вільний холестерин відносно контролю. Також встановлено підвищення вмісту вільних жирних кислот на 28% та зниження загального рівня фосфоліпідів на 24% порівняно з контролем. У групі, що разом з омепразолом отримувала мультипробіотик «Симбітер® ацидофільний концентрований», спостерігалося відновлення досліджуваних показників до значень контрольної групи.

Таким чином, за умов тривалої шлункової гіпоацидності порушується ліпідний склад СОШ, що свідчить про розвиток деструктивних процесів у епітеліоцитах шлунка. Мультипробіотик «Симбітер® ацидофільний концентрований» відновлює порушений баланс ліпідів у СОШ щурів з шлунковою гіпохлоргідрією, а значить, може бути ефективним засобом профілактики в умовах тривалої гіпоацидності шлункового соку різного ґенезу.

Бучковська І., Копильчук Г.

АМР-ДЕЗАМІНАЗНА АКТИВНІСТЬ У ГЕПАТОЦИТАХ ПОПЕРЕДНЬО ОПРОМІНЕНИХ ЩУРІВ-ПУХЛИНОНОСІЇВ

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

Ферменти циклу пуринових нуклеотидів, зокрема АМР-дезаміназа (КФ 3.5.4.6), яка гідролізує АМР до ІМР та аміаку, забезпечують метаболічні перетворення аденілових нуклеотидів і контролюють рівень специфічних внутрішньоклітинних модуляторів, таких як АМР, аденозин та інозин. Дані літератури (Николенко Ю., 2003; Тапбергенов С., 2009) засвідчують участь ферментів нуклеотидного обміну у формуванні протипухлинного імунітету. Встановлено, що підвищення рівня радіоактивного випромінювання збільшує ймовірність онкологічного ризику у людей і тварин у віддалені строки. Підвищення радіаційного навантаження хоча і не створює прямої загрози життю людини, але впливає на адаптивні та функціональні можливості організму, модифікуючи різні клітинно-тканинні процеси (Дружина Н.А., 2003).

Мета роботи – вивчити зміни АМР-дезаміназної активності у гепатоцитах щурів із карциномою Герена, трансплантованою на фоні попереднього фракціонованого опромінення малими дозами радіації.

Результати досліджень показали підвищення АМР-дезаміназної активності у гепатоцитах щурів-пухлиноносіїв упродовж усього експериментального періоду, що на термінальних етапах канцерогенезу в 2,4 рази перевищує показники латентної стадії пухлинного росту. Даний факт відображає посилення процесів незворотного дезамінування АМР до ІМР з подальшим утворенням інозину (Тапбергенов С.О., 2009), який може активувати ферменти, задіяні в процесах клітинного дихання (Алиева А.А., 2008), що за умов росту в організмі злоякісного новоутворення, ймовірно, є проявом адаптивно пристосувальної реакції печінки як основного гомеостатичного органа (Федорів А.М., 2001).

АМР-дезаміназа бере участь у регуляції внутрішньоклітинного вмісту нуклеотидів, а отже, і енергетичного потенціалу клітини – необхідного фактора клітинного метаболізму (Thebault M.T., 2005; Дудиньска В., 2006). Зменшення енергетичного заряду аденілатів призводить до підвищення внутрішньоклітинної концентрації АТР, що може інгібувати перебіг реакцій катаболізму пуринових нуклеотидів у позаклітинному середовищі (Belardinelli L.,

1995). Відповідно, підвищення АМР-дезаміназної активності у печінці на логарифмічній та стаціонарній стадіях пухлинного росту запобігає зростанню рівня АМР, що може конкурентно дефосфорилюватися 5'-нуклеотидазою з утворенням внутрішньоклітинного аденозину (Ракша Н.Г., 2004) у разі інтенсифікації енергетичного метаболізму, та забезпечує збереження енергетичного заряду клітини (заряду Еткінсона).

За дії попереднього фракціонованого опромінення малими дозами радіації у гепатоцитах щурів-пухлиноносіїв максимальне підвищення АМР-дезаміназної активності спостерігається в період посиленого злоякісного росту, перевищуючи показники латентної стадії у 2 рази із подальшим зниженням на стаціонарній стадії росту карциноми Герена в організмі. Дія іонізуючого випромінювання виявляється у специфічному ушкодженні біологічних структур, що пов'язане з активацією вільнорадикальних пероксидних процесів, а також з неспецифічними змінами клітинного окисного метаболізму, спрямованими на підтримку адекватного енергетичного забезпечення (Ковальова В.А., 2005). Тому пригнічення АМР-дезаміназної активності на стаціонарній стадії росту пухлини може відбуватися за рахунок підвищення внутрішньоклітинного рівня АФК, що призводить до окислення залишків певних амінокислот, зокрема гістидину, цистеїну, аргініну, лізину та проліну (Гусак В.В., 2007).

Отже, попереднє фракціоноване опромінення малими дозами радіації призводить до інтенсивного підвищення АМР-дезаміназної активності на логарифмічній стадії росту неоплазми з подальшим зниженням її на термінальних етапах канцерогенезу.

Вербовська К., Мельникова Н., Деркач Є., Шепельова І.

КОНЦЕНТРАЦІЯ ГЛЮКОЗИ У КРОВІ КРОЛІВ ЗА УМОВ ОТРУЄННЯ СТРОНЦІЄМ

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

Стронцій є одним із найтоксичніших елементів, який, потрапляючи в організм, практично не виводиться і накопичується в різних органах і тканинах. Стронцій поступово накопичується в тканинах, перш за все – в кістках, печінці та нирках. У відповідь на введення стронцію в організмі тварин підвищується утворення вільних радикалів, що призводить до посиленого витрачання антиоксидантів на їх знешкодження.

Відомо, що іони стронцію є одним із факторів, які зумовлюють розвиток оксидативного стресу. У механізмі токсичної дії стронцію значну роль відіграє збільшення кількості супероксидних радикалів і активація процесів пероксидного окиснення ліпідів і окисної модифікації білків.

Метою нашої роботи було дослідження концентрації глюкози в крові кролів, уражених стронцієм.

Отруєння тварин стронцію хлоридом проводилося шляхом щоденного введення стронцію хлориду per os, упродовж 14 діб, з розрахунку 0,006 г/100 на 100 г маси тіла.

Дослідні тварини були поділені на 2 групи:

I – інтактні кролі;

II – кролі, яким уводили стронцію хлорид (у подальшому кролі, отруєні стронцію хлоридом).

Визначення концентрації глюкози в крові проводилося на біохімічному аналізаторі Microlab-200 (Нідерланди) згідно з методиками, що визначені інструкцією, з використанням стандартних наборів реагентів фірми «Human» (Україна).

Результатами проведених досліджень встановлено підвищення рівня глюкози в крові отруєних кролів на 19,6%, що свідчить про активізацію процесів глюконеогенезу в печінці, та сприяє посиленому накопиченню глюкози, необхідної для пластичних функцій. Активація глюконеогенезу відбувається у зв'язку зі зниженням репресорної дії інсуліну на синтез відповідних ключових ензимів у печінці та нирках. В той же час, зростання концентрації глюкози за умов отруєння організму стронцієм можна також пояснити зниженням інтенсивності реакцій гліколізу, тобто спроможності організму щодо її використання в метаболічних процесах.

Галенова Т., Конопельнюк В., Савчук О.

АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ У РІЗНИХ ТКАНИНАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ

Кафедра біохімії, Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
Пр. Глушкова,2, м. Київ, 03127, Україна
galenovatanya@rambler.ru

Цукровий діабет (ЦД) – захворювання ендокринної системи, яке характеризується порушенням усіх видів обміну речовин, і в першу чергу вуглеводного. Метаболічні порушення при ЦД включають багато факторів, серед яких найбільше значення має довготривала гіперглікемія. Підвищення рівня глюкози у крові може бути наслідком зниження транспорту глюкози в клітини м'язової та жирової тканин, порушення внутрішньоклітинного метаболізму глюкози, зменшення її утилізації, зниження синтезу та підвищення розпаду глікогену в печінці.

Метою роботи було дослідження глюкокіназної, гексокіназної та глікогенсинтазної активності у клітинах печінки, м'язової та жирової тканин за умов експериментального ЦД 2 типу.

Досліди проводили на білих нелінійних щурах. Експериментальний ЦД 2 типу викликали одноразовим внутрішньочеревним введенням новонародженим щурятам розчину стрептозотоцину з розрахунку 80 мг на 1 кг маси тіла (Hemmings, Spafford, 2000). Розвиток ЦД у піддослідних тварин встановлювали через 180 діб на основі неодноразового виявлення гіперглікемії натще. Активність ферментів досліджували у гомогенаті печінки, м'язової та жирової тканин за допомогою спектрофотометричних методів (Massashi Morifuji et al., 2005).

У результаті досліджень встановлено, що за умов експериментального ЦД спостерігається зниження глюкокіназної активності у клітинах печінки та м'язової тканини відповідно на 35% і 45% порівняно з показниками контрольної групи, у той час як глюкокіназна активність у жировій тканині залишалася незмінною за умов досліджуваної патології. Нами не були відмічені зміни гексокіназної активності в усіх досліджуваних тканинах у групі тварин з моделлю ЦД 2 типу порівняно з контролем. Показано зниження загальної глікогенсинтазної активності у клітинах печінки та м'язової тканини відповідно на 36% та 23% за умов експериментального ЦД 2 типу порівняно з контрольними показниками.

Отримані експериментальні дані вказують на зміни у функціонуванні ферментів вуглеводного обміну за умов ЦД 2 типу, що може бути причиною порушення внутрішньоклітинного метаболізму глюкози і підвищенн

Гальчишак Л., Здіорук М., Бродяк І., Сибірна Н.

ТРАНСЛОКАЦІЯ РЕГУЛЯТОРНОЇ СУБОДИНИЦІ p85альфа ФОСФАТИДИЛІНОЗИТОЛ-3'-КІНАЗИ МОНОНУКЛЕАРНИХ ЛЕЙКОЦИТІВ ЗА УМОВ АКТИВАЦІЇ ЛЕКТИНАМИ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
iryna_brodyak@yahoo.com

За умов цукрового діабету (ЦД) відбувається виражений перерозподіл сіаловмісних вуглеводних детермінант у просторовій структурі глікопротеїнових рецепторів мембран лейкоцитів периферичної крові. Це є причиною порушення функціонального стану мононуклеарних та поліморфноядерних лейкоцитів і може призвести до зміни агрегаційної й адгезивної здатності цих клітин при патології. Зміни у морфофункціональному стані лейкоцитів крові, які зумовлюють порушення їхньої взаємодії з ендотелієм судин, є етіологічною передумовою розвитку діабетичних ускладнень та хронічних захворювань, що погіршують стан хворих.

Фосфатидилінозитол-3'-кіназа (PI-3'-кіназа) є одним із найважливіших регуляторних ензимів, який міститься на перехресті найрізноманітніших шляхів сигналювання і контролює ключові функції клітини. Гіперглікемія за умов діабету викликає перехід лейкоцитів у преактивований стан, який значною мірою є результатом активації і транслокації PI-3'-кіназа у цитоскелет, у сайти, які опосередковують інтегрин-залежну фокальну адгезію клітин. Тому метою

нашої роботи було вивчити перерозподіл регуляторної субодиниці р85б/PI-3'-кінази між мембранною та цитоскелетною фракціями в мононуклеарних лейкоцитах за умов ЦД 1 типу. Для з'ясування структури сіаловмісних глікопротеїнів, що опосередковують трансдукцію сигналу через PI-3'-кіназний шлях, проводили двохетапну преінкубацію суспензії мононуклеарних лейкоцитів. Спочатку клітини інкубували зі селективним неконкурентним інгібітором ферменту PI-3'-кінази – вортманіном, а після цього зі сіалоспецифічними лектинами.

Рівень р85б регуляторної субодиниці PI-3'-кінази переважав у мембранній фракції порівняно з цитозольною фракцією в мононуклеарних лейкоцитах контрольних зразків. Після індукуючого впливу SNA в мононуклеарах здорових донорів дана субодиниця PI-3'-кінази транслокувалася із мембранної фракції у цитозольну. Сіалоспецифічний лектин MAA викликав аналогічний, але більш помітний перерозподіл регуляторної субодиниці PI-3'-кінази: у цитозольній фракції вміст р85б субодиниці збільшився з 30% до 80%, а у мембранній – зменшився із 70% до 20%. На фоні впливу вортманіну, який інгібував ензиматичну активність PI-3'-кінази, та лектину SNA вміст р85альфа в мембранній фракції зменшувався в 1,3 разу (55% р85альфа/PI-3'-кінази залишалося мембранозв'язаною). При дії на мононуклеарні лейкоцити вортманіну та лектину MAA, р85б регуляторна субодиниця PI-3'-кінази транслокується із мембранної фракції у цитозольну, тому рівень даної субодиниці знижується у мембрані в 2,5 рази.

За умов ЦД 1 типу в мононуклеарних лейкоцитах рівень р85б / PI-3'-кінази переважав у мембранній фракції порівняно з цитозольною фракцією. Після індукуючого впливу лектинів SNA та MAA в мононуклеарах людей, хворих на діабет, дана субодиниця PI-3'-кінази транслокується із мембранної фракції у цитозольну, внаслідок чого її рівень у цитозолі мононуклеарів збільшився до 100%. За умов преінкубації мононуклеарів з лектином зародків пшениці виявлено перерозподіл регуляторної субодиниці PI-3'-кінази: у цитозольній фракції вміст р85б субодиниці збільшився з 40% до 80%, а у мембранній – зменшився із 60% до 20%. При ЦД 1 типу під час преінкубації мононуклеарних лейкоцитів з вортманіном, а тоді з сіалоспецифічними лектинами SNA, WGA і MAA, виявлено односпрямовані зміни: регуляторна субодиниця р85альфа/PI-3'-кінази транслокується із мембранної фракції у цитозольну, локалізуючись в основному в цитозольній фракції (95-100%). Отже, після індукуючого впливу лектинів WGA, SNA, MAA з'ясували, що сіаловмісні глікопротеїни мононуклеарних лейкоцитів крові задіяні в проведенні внутрішньоклітинного сигналу, що викликає транслокацію р85б регуляторної субодиниці PI-3'-кінази із мембрани у цитозоль. *Дослідження були підтримані грантом УНТЦ (Науково-технологічним Центром України), 2008-2010 рр.*

Грохольська О., Шуваєва Г.

ГОЛОДУВАННЯ ЗА АРГІНІНОМ ІНДУКУЄ АВТОФАГІЮ В КЛІТИНАХ ЛІНІЇ КАРЦИНОМИ ЯЙНИКІВ ЛЮДИНИ SKOV3

Інститут біології клітини НАН України
вул. Драгоманова 14/16, м. Львів, 79005, Україна
groholska@i.ua

Автофагія – це катаболічний процес, який супроводжується захопленням та деградацією внутрішньоклітинного матеріалу в спеціальних везикулах – автофаголізосомах. Процес автофагії характерний для всіх типів клітин, основною функцією якого є підтримання гомеостазу клітини шляхом оновлення органел та білків. Дія певних стресових чинників, наприклад, нестача поживних речовин, може бути причиною надмірної активації автофагії, що сприяє або виживанню клітин, або, в протилежному випадку, призводить до їхньої загибелі. З'ясування цього питання потребувало зручної клітинної моделі з інтактною автофагією, тому метою нашої роботи було дослідити роль автофагічної деградації білків при нестачі аргініну в клітинах лінії карциноми яйників людини SKOV3.

Було показано, що нестача аргініну призводила до зупинки поділу SKOV3 клітин відразу ж після початку голодування. Цікаво, що клітини відновлювали свій ріст навіть після 96-годинного голодування, що може свідчити про резистентність цієї клітинної лінії до нестачі аргініну.

Використовуючи монодансилкадаверин (MDC), класичний флуоресцентний барвник, що селективно зафарбовує автофагосоми й автофаголізосоми, ми виявили, що голодування за аргініном індукує процес автофагічної деградації вже після 30 хвилин голодування. Застосування інгібіторів автофагії 3-метиладеніну (3 MA) й аспарагіну (Asn) усувало флуоресцентний сигнал.

Методом флуоресцентного аналізу маркерних білків автофагосом MAP LC3 та Beclin1, а також лізосомних мембранозв'язаних білків LAMP1 та Golgin 97 була показана колокалізація MAP LC3/ LAMP1 та Beclin1/Golgin 97 уже на 30 хвилину голодування за аргініном, що є незаперечним доказом утворення автофаголізосом, характерних для кінцевої стадії автофагії. Колокалізація цих білків була відсутня при використанні інгібіторів автофагії (3MA, Asn, та хлорахінону (CQ)). Також ефективність процесу автофагії оцінювали методом вестерн-блот-аналізу MAP LC3 білка.

Наші результати свідчать, що голодування за аргініном індукує строгу автофагічну відповідь у клітинах карциноми яйників людини SKOV3, що може мати захисні функції у виживанні цих клітин в умовах амінокислотного голодування. Ми припускаємо, що лінія клітин SKOV3 може бути використана як зручна модель для дослідження ролі автофагічної модуляції для розробки протиракової терапії.

Головань О., Мельникова Н., Деркач Є., Шепельова І.

ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ СЕЛ-ПЛЕКС НА ПОКАЗНИКИ АЗОТНОГО ОБМІНУ В КРОВІ КРОЛІВ ЗА УМОВ ОТРУЄННЯ СТРОНЦІЄМ

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

Серед хімічних речовин, що забруднюють повітря, водоймища, ґрунт, харчові продукти, важкі метали та їх сполуки утворюють значну групу токсикантів, які визначають негативний вплив на екологічну структуру довкілля та становлять загрозу здоров'ю населення.

Основними джерелами техногенного забруднення важкими металами довкілля в Україні є підприємства гірничовидобувної, хімічної, металургійної, машинобудівної, паливно-енергетичної промисловості, комунального господарства.

Відомо, що іони стронцію є одним із факторів, які зумовлюють розвиток оксидативного стресу. У механізмі токсичної дії стронцію значну роль відіграє збільшення кількості супероксидних радикалів і активація процесів пероксидного окиснення ліпідів та окисної модифікації білків.

Для обмеження цих процесів в організмі існують механізми захисту. Регуляція вільнорадикального окиснення забезпечуються в клітині системою антиоксидантного захисту, що включає в себе сполуки і ферменти, які знешкоджують вільні радикали або інактивують продукти пероксидного окиснення ліпідів.

Селен є одним із найважливіших представників, які належать до групи антиоксидантів – речовин, що стабілізують клітинні мембрани, завдяки їх здатності запобігати окисненню ненасичених жирних кислот мембран, руйнувати перекиси і пригнічувати утворення вільних радикалів.

Отруєння тварин стронцію хлоридом проводилося шляхом щоденного введення стронцію хлориду per os, упродовж 14 діб, з розрахунку 0,006 г/100 на 100 г маси тіла.

Дослідні тварини були поділені на 3 групи:

I – інтактні кролі;

II – кролі, яким вводили стронцію хлорид (у подальшому кролі, отруєні стронцію хлоридом);

III − кролі, яким вводили стронцію хлорид упродовж 14 діб, і, додатково, з 15 доби – вводили препарат Сел-Плекс упродовж 14 діб.

Визначення показників азотного обміну в крові проводилося на біохімічному аналізаторі Microlab-200 (Нідерланди) згідно з методиками, що визначені інструкцією, з використанням стандартних наборів реагентів фірми «Human» (Україна).

Результатами наших досліджень у крові отруєних кролів за умов введення різних форм селену виявлено зміни показників азотного обміну в бік наближення до відповідних показників у крові інтактних кролів. Уведення препарату Сел-Плекс призводить до зниження концентрації

сечовини і креатиніну на 17,6% і 11,6% та підвищення концентрації загального білка на 41,8% порівняно з тваринами отруєними стронцію хлоридом, що, на наш погляд, пов'язане з підвищенням резервних можливостей антиоксидантної системи організму отруєних кролів.

Данилюк Х., Хопта Н., Нечитайло Л.

ЗМІНИ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ НІТРИТУ НАТРІЮ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ЕКСТРАКТОМ АРТИШОКА

Івано-Франківський національний медичний університет
вул. Галицька, 2, м. Івано-Франківськ, 76000, Україна
khopta@list.ru

Вже не одне десятиліття нітратно-нітритний прес реально загрожує здоров'ю населення багатьох країн, зокрема і України. Нітрати надходять в організм людини з питною водою, овочами та фруктами, внаслідок нераціонального використання у сільському господарстві, а також порушення умов зберігання азотних добрив. Під впливом ферментів нітрати відновлюються у значно токсичніші нітрити. А ще нітрити потрапляють в організм людини з м`ясо-ковбасними виробами, фармакологічними препаратами тощо. При взаємодії нітриту з оксигемоглобіном утворюються вільні радикали, які зумовлюють процеси пероксидації ліпідів і білків, що призводить до порушення структури мембран і функціонування клітин. У зв'язку з цим актуальною залишається проблема дослідження ефективності лікарських рослин для профілактики та корекції токсичного впливу нітритів, як - от артишоку - рослини з довгою історією і перспективним майбутнім. Екстракт артишоку виводить з організму токсини, важкі метали, нітрогеновмістні сполуки. Інтоксикацію моделювали введенням нітриту натрію з питною водою в дозі 1/10 LD_{50} протягом 10 днів. Тварин – білих щурів (n=30) - було поділено на три групи: 1-а - інтактні, отримували звичайну питну воду, 2-ша - уражені $NaNO_2$, 3-га - тварини, які отримували препарат «Артишока екстракт-здоров`я» після завершення десятиденного введення нітриту натрію. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під легким ефірним наркозом на 1-, 14-, та 28-у доби після завершення інтоксикації з дотриманням вимог біоетики. Визначали у плазмі крові вміст загального та іонізованого кальцію, магнію, неорганічного фосфату й активність лужної фосфатази фотоколориметрично уніфікованими методиками, а також вміст кальцію і магнію у стегнових кістках тварин атомно-абсорбційним методом. Порівняно з інтактними у тварин 2-ї групи активність лужної фосфатази знижувалася на 14- і 28-му доби відповідно у 1,9 і 2,8 разу. Проте у тварин, які одержували досліджуваний препарат протягом 28 днів, активність ферменту відповідала рівню інтактних, хоча на 14-ту добу показники активності ферменту тварин 2-ї та 3-ї груп достовірно не відрізнялись. Щодо вмісту фосфатів у плазмі, то в інтоксикованих тварин 2-ї групи він знижувався на 14-ту добу більше (у 1,5 разу), ніж у тварин 3-ї групи (у 1,2 разу), а у віддаленому періоді рівень фосфатів у двох дослідних групах не відрізнявся від показників інтактних тварин. Концентрація іонізованого кальцію на 14-ту добу корекції досягала значень інтактних тварин, а на 28-му добу - перевищувала рівень тварин 1- та 2-ї груп у 1,3- 1,5 разу. Подібна закономірність спостерігалась і щодо вмісту загального кальцію плазми. У тварин, уражених нітритом натрію, концентрація магнію зменшувалась на 14 день у 1,7 разу порівняно з інтактними, тоді як у тварин 3-ї групи – у 1,4 разу. На 28-му добу у тварин, що отримували екстракт артишоку, рівень магнію наближався до значень інтактних, тоді як у тварин другої групи був у 1,5 разу нижчим. Вміст основних макроелементів кістки кальцію і магнію зазнав суттєвих змін у тварин другої групи: якщо рівень кальцію у стегновій кістці знижувався на 12-25%, то магнію дещо підвищувався – на 10-15%. При застосуванні екстракту артишоку достовірних відхилень у вмісті кальцію і магнію у стегнових кістках тварин не виявлено. Одержані дані дають підстави для подальшого вивчення впливу лікарського засобу «Артишока екстракт-здоров`я» на інші показники метаболізму інтоксикованих тварин.

Денега І.[1], Нечай Г.[2, 3]

ПРОТЕКТОРНА ДІЯ СЕЛЕНІЗОВАНОЇ БІОМАСИ ДРІЖДЖІВ *PHAFFIA RHODOZYMA* НА ОРГАНІЗМ ЩУРІВ ЗА ІНТОКСИКАЦІЇ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

[1] Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
[2] Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова 14/16, м. Львів, 79005, Україна
[3] Інститут біології тварин НААН України, вул. Стуса 38, м. Львів, 79034, Україна

Дріжджі *Xanthophyllomyces dendrorhous /Phaffia rhodozyma*, що синтезують каротиноїд астаксантин, широко використовуються, як цінна харчова добавка, котра проявляє сильну антиоксидантну дію. Відомо також, що антиоксидантними властивостями володіють харчові добавки селеновмісних сполук. Перспективним є вивчення поєднання властивостей каротиноїдсинтезуючих дріжджів *P. rhodozyma* і органічних форм селену для одержання препаратів, які б містили біодоступні органічні форми селену і могли б використовуватися з лікувально-профілактичною ціллю.

Метою даної роботи було поєднати антиоксидантні властивості астаксантину та селену в біомасі дріжджів *P. rhodozyma* і з'ясувати її вплив на стан системи антиоксидантного захисту у щурів за умов оксидативного стресу, індукованого тетрахлорметаном.

Штам «дикого» типу *X. dendrorhous/P. rhodozyma NRRL Y-10921* було вирощено у рідкому поживному середовищі із додаванням (за необхідності) селеніту натрію (кінцева концентрація 5 мг/л). Вміст астаксантину в біомасі визначали, обробляючи клітини ДМСО з подальшою екстракцією каротиноїдів у суміш гексану та етилацетату (1:1), вимірювали оптичну густину органічної фази при довжині хвилі 480 нм. Вимірювання загального вмісту селену в біомасі здійснювали за допомогою атомно-абсорбційного спектрофотометра.

Дослідження проводили на самцях білих щурів лінії Вістар із початковою масою тіла 120-130 г. Експеримент проводили на 8 групах щурів по 3 тварини у кожній: 1, 2 – групи тварин, яким згодовували стандартний комбікорм (СК); 3, 4 – тварини одержували СК з додаванням біомаси дріжджів *P. rhodozyma* (4,4% від раціону), вміст каротиноїдів у якій становив 370 мкг/г сухої біомаси; 5, 6 – групи тварин, яким згодовували СК з селенізованою біомасою дріжджів *P. rhodozyma* (4,4% від СК), вміст селену в якій становив – 2 мкг/г сухої біомаси; 7, 8 – щури, яким згодовували СК з домішками селеніту натрію (5 мкг/ твар. в день). Тваринам 2, 4, 6 і 8-ї груп на 14 і 16-й день досліду вводили тетрахлорметан (ТХМ) у дозі 0,2 мл/100 г маси тіла у вигляді 50% олійного розчину.

У групах тварин, яким вводили ТХМ, спостерігалося підвищення активності аланін амінотрансферази (АлАТ) й аспартат амінотрансферази (АсАТ) в печінці та плазмі крові, порівняно з інтактними тваринами. Активність АлАТ і АсАТ зростала на 11 і 14% у тварин, яких піддавали інтоксикації ТХМ та годували СК із додаванням біомаси дріжджів, тоді як активність даних ферментів у групі, інтоксикованих ТХМ тварин, до раціону яких входила селенізована біомаса *P. rhodozyma*, знизилася на 47 і 9%, відповідно. Введення в раціон селеніту натрію та селенізованої біомаси дріжджів провокувало зниження активності каталази, як у інтактних, так і в уражених ТХМ щурів. Активність глутатіонпероксидази зросла на 70 %, 37 % і 74 %, відповідно, у тварин 4, 6, 8-ої груп, порівняно з 2-ю групою.

Введення тваринам ТХМ призвело до активації процесів окисної модифікації ліпідів та білків. Додавання біомаси *P. rhodozyma* до раціону інтоксикованих ТХМ щурів призвело до зниження вмісту дієнових кон'югатів (ДК) на 16% і малонового диальдегіду (МДА) на 20%, тоді як додавання збагаченої селеном біомаси цих дріжджів призвело до зниження вмісту ДК в 4 рази, і МДА – на 24%. Дослідження вмісту карбонільних груп білків (КГБ) у печінці інтоксикованих тварин показало, що у тварин 4, 6 та 8-ї груп спостерігається зниження вмісту КГБ порівняно із 2-ю групою, на 14, 20 і 50%, відповідно.

Нами було показано, що селенізована біомаса каротиноїдсинтезуючих дріжджів *P. rhodozyma* може бути використана як ефективна біологічно активна добавка з високим антиоксидантним потенціалом у різних видах дієт тварин і людини.

Довбенко О., Мельникова Н., Ткаченко Т.

ПОКАЗНИКИ КИСЛОТНО-ЛУЖНОГО СТАНУ КРОВІ ЩУРІВ У ПЕРІОД ВАГІТНОСТІ

Національний університет біоресурсів і природокористування України
03041 м. Київ, вул. Потєхіна 16, навч. корп. №12
tkach1982@gmail.com

Кислотно-лужний стан (КЛС) є однією із важливих систем організму, яка забезпечує стабільність метаболічного гомеостазу та залежить від функціонування багатьох органів і систем. Гомеостаз людського організму потребує точної регуляції іонів гідрогену в рідинах організму. Ця регуляція, або кислотно-лужна рівновага, базується на тому, що легені і нирки підтримують відповідно баланс вуглекислого газу та бікарбонатів і зберігають хімічне оточення, яке є оптимальним для клітин (Rutecki G.W., 1997, Любецька Т.В., 1999).

Дисбаланс у системі регуляції кислотно-лужного стану швидко ініціює переорієнтацію в клітинному обміні. В умовах тривалого впливу зовнішніх чи внутрішніх факторів компенсаторні можливості організму вичерпуються, внаслідок чого виникають глибокі порушення обмінних процесів, що негативно впливає на ряд фізіологічних функцій і часто закінчується розвитком патології (Мельничук Д.О., 1992, Мельникова Н.М. і ін., 2005).

Незважаючи на значну кількість досліджень, спрямованих на вивчення КЛС біологічних рідин за різного фізіологічного стану, ряд аспектів цієї проблеми, які характеризують зміни показників КЛС крові вагітних тварин, висвітлені недостатньо і потребують подальших досліджень.

Метою роботи було дослідити показники кислотно-лужного стану крові щурів у період вагітності.

Дослідження проводили на базі кафедри біохімії тварин, якості і безпеки сільськогосподарської продукції ім. акад. М.Ф. Гулого, віварію факультету ветеринарної медицини. В експерименті використовували білих безпородних самок щурів масою тіла 200-240 г. Було створено 2 дослідні групи тварин, по 8 щурів у кожній. Дослід проводився за схемою: 1 група – контрольна (інтактні тварини); 2 група – вагітні щури (18-20 день вагітності). Тривалість досліду становила 20 діб. Відібрану кров стабілізували гепарином, показники кислотно-лужного стану – pH, парціальний тиск вуглекислого газу (PCO_2) і кисню (PO_2), концентрацію бікарбонатів [HCO_3^-], вміст загальної вуглекислоти (CO_2 заг.) та зсув буферних основ (ЗБО) визначали в пробах гепаринізованої крові на аналізаторі газів Gastat-601 (Японія). Експерименти проводили відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях.

Результатами проведених досліджень було встановлено, що у вагітних самок значення pH крові становить 7,31 ± 0,01 порівняно зі значенням pH крові інтактних самок (7,35 ± 0,01), а величина зсуву буферних основ зменшується до –6,23 ± 0,38. Встановлено також зниження у крові вагітних щурів рівня PO_2 на 22,9%, рівня PCO_2 – на 17,3%, вмісту CO_2 заг. – на 16,1% та величини [HCO_3^-] – на 15,4% порівняно з інтактними тваринами. Таким чином, отримані результати узгоджуються з даними літератури, згідно з якими в останній період вагітності в організмі тварин і людини фізіологічно виникає метаболічний ацидоз, пов'язаний з гемічною гіпоксією, посиленням гліколітичних і гальмуванням аеробних процесів у тканинах і надходженням у кровообіг матері кислих продуктів обміну плода (Савченков Ю.И., 2001).

Камінський О., Мельникова Н., Деркач Є., Шепельова І.

ВПЛИВ СЕЛЕНУ НА НАКОПИЧЕННЯ СТРОНЦІЮ В ОРГАНІЗМІ ОТРУЄНИХ КРОЛІВ

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

Основними джерелами техногенного забруднення важкими металами довкілля в Україні є підприємства гірничовидобувної, хімічної, металургійної, машинобудівної, паливно-енергетичної промисловості, комунального господарства.

Серед важких металів, стронцій – один із найбільш токсичних елементів. Механізм біологічної дії стронцію полягає в тому, що він витісняє іони кальцію з кристалічної решітки гідроксилапатиту, який є структурним елементом сполучної тканини. Для обмеження цих

процесів в організмі існують механізми захисту. Регуляція вільнорадикального окиснення забезпечується в клітині системою антиоксидантного захисту. Селен є одним із найважливіших представників, які належать до групи антиоксидантів – речовин, що стабілізують клітинні мембрани, завдяки їх здатності запобігати окисненню ненасичених жирних кислот мембран, руйнувати перекиси і пригнічувати утворення вільних радикалів.

Метою нашої роботи було дослідження впливу неорганічної та органічної форм селену на розподіл і накопичення стронцію в крові, печінці, нирках та кістках кролів за умов отруєння стронцію хлоридом.

Отруєння тварин стронцію хлоридом проводилося шляхом щоденного введення стронцію хлориду per os, упродовж 14 діб, з розрахунку 0,006 г/100 на 100 г маси тіла. Натрію селеніт в 0,9% розчині натрію хлориду вводили внутрішньочеревно в дозі 2 мг/кг ваги. Сел-Плекс додавали з розрахунку 0,2 мг/кг комбікорму.

Дослідні тварини були поділені на 4 групи:

I – інтактні кролі;

II – кролі, яким вводили стронцію хлорид (у подальшому кролі, отруєні стронцію хлоридом);

III – кролі, яким вводили стронцію хлорид упродовж 14 діб, і, додатково, з 15 доби − вводили натрію селеніт упродовж 14 діб;

VI − кролі, яким вводили стронцію хлорид упродовж 14 діб, і, додатково, з 15 доби – вводили препарат Сел-Плекс упродовж 14 діб.

Вміст стронцію в печінці, нирках, кістках і крові визначали спектрохімічним методом, використовуючи режим абсорбції в повітряно-ацетиленовому полум'ї на атомно-абсорбційному спектрофотометрі AAS-30 фірми Карл Цейс (Німеччина).

Встановлено, що введення натрію селеніту кролям, отруєним стронцію хлоридом, зменшує вміст стронцію в крові на 31,2%, в печінці – на 19,5%, нирках – на 13,4% та в кістках – на 15% відносно відповідних показників в організмі кролів, отруєних стронцію хлоридом. Ці зміни можна пояснити тим, що натрію селеніт сприяє покращенню репаративних процесів у гепатоцитах, стимулює гіпертрофію і гіперплазію гранулярного цитоплазматичного ретикулуму. Це, у свою чергу, призводить до нормалізації процесів синтезу альбумінів і, відповідно, до покращення екскреторної функції печінки.

Введення препарату Сел-Плекс в організм отруєних кролів, призводить до зменшення вмісту стронцію в крові на 54,8%, печінці – на 35,8%, нирках – на 18,5% і в кістках – на 25-,9% відносно цих показників в організмі отруєних кролів, що, на наш погляд, пов'язано з активізацією системи антиоксидантного захисту за умов токсичного впливу важких металів.

Таким чином, слід зазначити, що більш виражена нормалізація вмісту стронцію в організмі відзначена при застосуванні препарату Сел-Плекс, що, можливо, пов'язано з більш вираженою реактивністю системи антиоксидантного захисту за умов введення ксенобіотика, на тлі застосування органічної форми селену.

Котляр І., Ямшанова О., Філінська О., Яблонська С.

ДІЯ ПОХІДНОГО МАЛЕІМІДУ НА ОСНОВНІ ПОКАЗНИКИ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ТОВСТОГО КИШЕЧНИКА У ЩУРІВ ПРИ 1,2-ДИМЕТИЛГІДРАЗИН-ІНДУКОВАНОМУ КАНЦЕРОГЕНЕЗІ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
01601 м. Київ, вул. Володимирська, 64
kotlyarira@mail.ru

Колоректальний рак займає одне з провідних місць серед онкологічних захворювань. Визначним досягненням у галузі клітинної біології та біохімії є розробка сполук, які б справляли цитостатичну дію на пухлинні клітини, з мінімальним впливом на нормальні проліферуючі клітини. Науково-виробничим хіміко-біологічним центром Київського національного університету імені Тараса Шевченка синтезовано похідне малеіміду – 1-(4-Cl-бензил)-3-хлор-4-(CF_3-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діон (MI-1), що є інгібітором протеїнкіназ, проявляє цитос-

татичну дію на лініях трансформованих і пухлинних клітин людини, найбільш ефективно він діє на культуру клітин аденокарциноми товстого кишечника SW620.

Метою роботи було визначити активність антиоксидантних ферментів, вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів і білків слизової оболонки товстого кишечника при дії МІ-1 за умов індукованого 1,2-диметилгідразином канцерогенезу товстого кишечника щурів.

Для проведення експериментів використовували білих щурів-самців. Тварини отримували досліджувані речовини протягом 20 тижнів. МІ-1 вводили інтрагастрально щодня у дозі 0,027 мг/кг та 2,7 мг/кг, ДМГ – підшкірно у дозі 21 мг/кг один раз на тиждень.

Встановлено, що при ДМГ-колоректальному канцерогенезі вміст ТБК-активних продуктів і карбонільних груп білків зростає на 80% та 30% відповідно. За даних умов активність супероксиддисмутази (СОД) і каталази знижується на 30%, що свідчить про порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги. Підвищення вмісту відновленого глутатіону (на 80%), активностей глутатіон-S-трансферази (на 60%) і глутатіонпероксидази (на 25%) при колоректальному канцерогенезі свідчить про активацію процесів знешкодження продуктів перекисного окиснення ліпідів, детоксикацію та виведення з організму проканцерогенів. МІ-1 не викликає достовірних змін досліджуваних показників, але знижує активність СОД і глутатіонпероксидази на 40% та 20% відповідно, що, очевидно, обумовлено не дією токсичних перекисних продуктів, оскільки вміст ТБК-активних продуктів і карбонільних груп білків не змінюється, а іншими факторами. Це може бути пов’язано з пригніченням експресії генів СОД та глутатіонпероксидази, що регулюються сигнальним кіназним каскадом PI3K/Akt [Rojo A.I. et al., 2004] та тісно пов'язаний з активацією мембранних тирозинкіназних рецепторів, які блокуються МІ-1. МІ-1 за умов раку товстого кишечника відновлює практично всі показники до контрольного рівня.

Таким чином, похідне малеіміду не викликає порушення проксидантно-антиоксидантної рівноваги в слизовій оболонці товстого кишечника та запобігає розвитку оксидативного стресу за умов ДМГ-індукованого експериментального колоректального канцерогенезу, нормалізуючи всі показники до контрольних значень.

Кеца О., Зла А., Мудрак М.

ВПЛИВ ПОПЕРЕДНЬОГО РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ В МАЛИХ ДОЗАХ НА 5-АМІНОЛЕВУЛІНАТСИНТАЗНУ АКТИВНІСТЬ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ІЗ ТРАНСПЛАНТОВАНОЮ КАРЦИНОМОЮ ГЕРЕНА

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
вул. Коцюбинського, 2, м.Чернівці, 58012, Україна
ksen808@mail.ru

Біосинтез гему – життєво необхідний процес для повноцінного функціонування організму. Гем входить до складу мітохондріальних та мікросомальних цитохромів, а також до ряду інших сполук, які виконують в організмі різноманітні біологічні функції. Дія на організм різних факторів навколишнього середовища, зокрема іонізуючого опромінення, може призвести до розвитку в організмі оксидативного стресу, швидкість розвитку якого в значною мірою визначається вмістом гему та активністю ключових ферментів його метаболізму.

Ключовий фермент біосинтезу гему в клітинах ссавців – 5-амінолевулінатсинтаза (АЛК-синтаза) - локалізований у мітохондріях та ендоплазматичному ретикулумі (ЕР), в найбільшій кількості у клітинах печінки, де він бере участь у синтезі простетичних груп мітохондріальних і мікросомальних цитохромів. Дія малих доз опромінення може призвести до порушення ферментативної активності АЛК-синтази, що позначиться на роботі дихального ланцюга мітохондрій і процесах біотрансформації екзо- та ендобіотиків.

Мета роботи – визначити ферментативну активність АЛК-синтази в мітохондріальній та мікросомальній фракціях печінки попередньо опромінених щурів з трансплантованою карциномою Герена. Результати проведених досліджень показали, що дія фракціонованого опромінення на нетрансформовані тканини організму, в якому розвивається пухлинний зародок, зумовлює зміни ферментативної активності АЛК-синтази як в мітохондріальній, так і в мік-

росомальній фракціях печінки. Так, у групи щурів, яких піддавали попередньому опроміненню, після чого трансплантували карциному Герена, встановлено, що на сьому добу після припинення дії радіації ферментативна активність АЛК-синтази мітохондріальної фракції печінки у 4 рази нижча від показників групи неопромінених щурів-пухлиноносіїв.

У віддалені терміни після опромінення, а відтак на логарифмічній і стаціонарній стадіях онтогенезу, спостерігається поступове зростання показників АЛК-синтазної активності, яке на 21-шу добу досягає значень групи неопромінених пухлиноносіїв.

Підвищення АЛК-синтазної активності в даному випадку може бути пов'язане з порушенням функціонування мітохондрій. Відомо, що при порушенні клітинного дихання, як і при нестачі АТФ у клітині, АЛК-синтазна активність швидко підвищується за рахунок активації транскрипції за участю NRF-1 (nuclear respiratory factor-1), а також за рахунок стимуляції переносу попередника АЛК-синтази із цитоплазми в мітохондрії.

Вплив малих доз радіації на компоненти мікросомальної фракції печінки щурів-пухлиноносіїв показав, що на 7-му добу після зняття радіаційного чинника ферментативна активність АЛК-синтази підвищується порівняно з неопроміненими пухлиноносіями. Підвищення активності АЛК-синтази на початковому етапі росту пухлини в післярадіаційних умовах може бути зумовлене потребою клітин у гемі для синтезу нових молекул цитохрому Р-450, за умови катаболізму вільного гему оксигеназою. По мірі росту пухлини АЛК-синтазна активність знижується до рівня неопромінених пухлиноносіїв на термінальній стадії онкогенезу.

Отже, вплив попереднього фракціонованого рентгенівського опромінення на організм призводить до зниження АЛК-синтазної активності в мітохондріальній фракції та одночасного підвищення активності досліджуваного ферменту у фракції мікросом печінки щурів-пухлиноносіїв на початкових етапах росту карциноми Герена в організмі. Стаціонарна фаза пухлинного росту в попередньо опроміненому організмі характеризується наближенням АЛК -синтазної активності досліджуваних субклітинних фракцій печінки до показників групи неопромінених щурів-пухлиноносіїв.

Лозінський О.

ВПЛИВ 2,4-ДИНІТРОФЕНОЛУ ТА НІТРОПРУСИДУ НАТРІЮ НА ПОКАЗНИКИ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Прикарпатський національний університет ім. Василя Стефаника
вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76000, Україна
lozinsky_o@ukr.net

На даний час вплив ксенобіотиків на організм тварин, рослин і мікроорганізмів широко вивчається. *Drosophila melanogaster* є зручним модельним об'єктом, в тому числі і для токсикологічних досліджень. Метою даної роботи було дослідження впливу ксенобіотиків - нітропрусиду натрію та 2,4-динітрофенолу на розвиток *D. melanogaster* лінії W^{1118} та стан антиоксидантної системи. Для отримання експериментального матеріалу мухи від стадії яйця до імаго розвивалися на вуглеводо-дріжджовому середовищі з додаванням різних концентрацій ксенобіотиків: нітропрусиду натрію (НПН) (0-1,5 мМ), 2,4-динітрофенолу (ДНФ) (0-10 мМ) та суміші даних ксенобіотиків (0,5 мМ ДНФ + 0-1,5 мМ НПН). Активність антиоксидантних і пов'язаних з ними ферментів (глютатіон-S-тансферази, ізоцитратдегідрогенази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази каталази, тіоредоксинредуктази та аконітази) визначали загальноприйнятими методами. Розвиток і виживання D. melanogaster оцінювались як відсоток лялечок, які розвинулися після внесення яєць у кількості 150 штук на 20 мл середовища з різними концентраціями ксенобіотиків.

У результаті проведених досліджень було виявлено, що динітрофенол був менш токсичним, ніж нітропрусид натрію за тих самих концентрацій.Так, за концентрації 0-2 мМ динітрофенол затримував розвиток мух на 24 години, але це не впливало на загальний вихід мух. За вищої концентрації (4 мМ) розвиток сповільнювався на 48 годин, а концентрація 10 мМ виявилася летальною. Нітропрусид натрію вже за концентрації 0,1 мМ сповільнював розвиток *D. melanogaster*

на 24 години, тоді як вищі концентрації нітропрусиду затримували його на 48 годин порівняно з контролем. Додавання в середовище низької концентрації ДНФ (0,5 мМ) разом з відповідними концентраціями НПН (НПН+ДНФ) спричинило позитивний вплив на розвиток мух. Так, затримка в розвитку порівняно з іншою групою, яка розвивалась на середовищі з НПН, була менш інтенсивною. Активності ізоцитратдегідрогенази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, глютатіон-S-тансферази були вищими за дії вищих концентрацій НПН, тоді як активність тіоредоксинредуктази достовірно не відрізнялася у порівнянні з контролем. Щодо активності аконітази, то за дії нітропрусиду натрію у концентрації 1-1,5 мМ відбувалося зниження її активності приблизно на 40%. Слід зауважити, що прослідковується чітка позитивна кореляція між активністю аконітази та виживанням *D. melanogaster*. Так, відсоток виходу мух за дії нітропрусиду натрію у концентрації 1-1,5 мМ становив 45% , а активність аконітази становила відвідно 40% порівняно з контролем. Таким чином, можна зробити наступні висновки: дія нітропрусиду натрію на *D. melanogaster* спричиняла оксидативний/нітрозативний стреси, про що свідчить зростання активності антиоксидантних ферментів та зниження активності аконітази, яка слугує додатковим маркером оксидативного/нітрозативного пошкодження клітинних структур

Мартинова С.

ЛІПІДНИЙ СПЕКТР СУБКЛІТИННИХ ФРАКЦІЙ НЕФРОЦИТІВ ЩУРІВ ПРИ ВВЕДЕННІ КОБАЛЬТУ

Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна
площа Свободи, 4, м. Харків, 61077, Україна
5mart5@ukr.net

Відомо, що надходження в організм надлишкових концентрацій солей важких металів і металів зі змінною валентністю викликає ушкодження всіх типів біомолекул. Сполуки кобальту широко використовуються в клінічній практиці, у промисловості, однак механізм його фізіологічної й патофізіологічної дії не з'ясований. Метою нашої роботи з'явилося вивчення ліпідного спектру мембран субклітинних фракцій нефроцитів при введенні в організм кобальту в підвищеній концентрації. Експерименти проведені на 1-місячних щурах лінії Вістар. Щурам цілодобово (протягом місяця) внутрішньошлунково вводили водяний розчин хлориду кобальту у концентрації 0,24 мг/л (у розрахунку 1 мл на 100г ваги тварини). Контрольній групі вводили дистильовану воду. Через місяць тварини виведені з експерименту шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Субклітинні фракції нирок получили диференційним центрифугуванням. Фракції ліпідів виділені методом тонкослойної хроматографії на сілікагелевих пластинах.

Дані проведених досліджень свідчать про те, що в мікросомальній фракції нефроцитів знижується зміст фосфоліпідів (переважно за рахунок фосфатидилхоліну), зміст холестеролу і його ефірів не відрізняється від їхнього рівня у тварин контрольної групи, також збільшена концентрація вільних жирних кислот. У ядерній фракції нефроцитів значно знижений зміст фосфатидилінозитолів (майже в 2 рази), фосфатидилхоліну (в 1,4 рази), збільшена концентрація вільного холестеролу (в 1,5 рази) і його ефірів. У митохондриальній фракції значно збільшений зміст вільного холестеролу (контроль - 0,22 ± 0,01 мл/г, дослідна проба - 0,37 ± 0,02 мл/г) і ефірів холестеролу (контроль - 0,32 ± 0,01 мл/г, дослідна проба - 0,48 ± 0,03 мл/г), знижена концентрація загальних фосфоліпідів (контроль - 0,71 ± 0,03 мл/г, дослідна проба - 0,59 ± 0,03 мл/г), значно підвищений рівень лізофосфатидилхоліну (в 1,5 рази). У цитозольній фракції збільшується зміст вільних жирних кислот, лізофосфатидилхоліну (в 1,8 рази), ефірів холестерину (в 1,4 р.); знижена концентрація фосфатидилхоліну й сфингомієлину. У фракції цитоплазматичних нефроцитів відзначається збільшення змісту вільного холестеролу і його ефірів лізофосфоліпідів при зниженні концентрації загальних фосфоліпідів. Отримані нами експериментальні дані свідчать про те, що при введенні в організм підвищених доз хлориду кобальту в складі питної води змінюється фракційна сполука субклітинних фракцій мембран нефроцитів, що можна розцінювати як процес їхньої дестабілізації. Установлено, що у всіх досліджуваних субклітинних фракціях збільшена концентрація кобальту; виразність змін у

ліпідному спектрі мембран корелює з концентрацією іонів кобальту в клітинних органелах. Виявлені нами зміни в ліпідному спектрі мембран нефроцитів можуть стати причиною порушень транспортних систем, що приведе до розвитку патологічних процесів у нирках.

Машейко І., Домащенко А.

РОЗПОДІЛ ГРАНУЛОЦИТІВ, МОНОЦИТІВ ТА ЛІМФОЦИТІВ ЗА ЕКСПРЕСІЄЮ АЛЬФА-1-КИСЛОГО ГЛІКОПРОТЕЇНУ ПРИ ХРОНІЧНИХ МІЄЛОЛЕЙКОЗАХ

Дніпропетровська державна медична академія
м. Дніпропетровськ, вул. Дзержинського 9, 49044, ДДМА
mash_7@mail.ru

Найбільш поширеною онкопатологією кровотворної системи людини є мієлопроліферативні захворювання, що характеризуються гіперплазією клітин кісткового мозку з переважним ураженням еритропоезу. Згідно зі сучасними даними, при мієлопроліферативних захворюваннях не тільки відбуваються зміни кількості клітин крові, але й підвищується експресія окремих білків. Одним із таких білків є альфа-1-кислий глікопротеїн (орозомукоїд, АГП) – гострофазовий білок-імуномодулятор.

Мета роботи: дослідити характер розподілу гранулоцитів, моноцитів та лімфоцитів за експресією альфа-1-кислого глікопротеїну при еритремії, хронічному мієлоїдному лейкозі та сублейкемічному мієлозі з метою пошуку більш інформативних показників перебігу хронічних мієлолейкозів.

Обстежені хворі були розподілені на такі групи: еритремія (n=10), хронічний мієлоїдний лейкоз (n=5), сублейкемічний мієлоз (n=8). Контрольна група налічувала 10 здорових донорів. Концентрацію АГП у плазмі крові визначали методом імунодоаналізу. Популяції лейкоцитів оцінювались за розподілом АГП на поверхні і всередині клітин, порівняно з контролем, на проточному цитометрі Beckman Coulter®.

Середній вміст АГП у плазмі крові контрольної групи (10) становив 0,84±0,07 г/л. У групі хворих на еритремію та хронічний мієлолейкоз концентрація АГП знижувалась до 0,62±0,08 та 0,58±0,06 г/л відповідно. Заслуговує уваги той факт, що у групі хворих на сублейкемічний мієлоз рівень АГП перебував у межах норми – 0,87±0,12 г/л.

Аналіз розподілу лейкоцитів за наявністю АГП при хронічних мієлолейкозах показав, що він значно відрізняється від норми. Так, при еритремії відзначалося зменшення кількості клітин з поверхневою та внутрішньоклітинною локалізацією АГП: гранулоцитів – на 68,53% та 26,06%, моноцитів на 24,96% та 64,74%, лімфоцитів – 13,36% та 31,91% відповідно. При хронічному мієлоїдному лейкозі показники розподілу гранулоцитів перебували у межах норми, крім того, спостерігалося зменшення кількості моноцитів і лімфоцитів з поверхнево-асоційованим (36,84% та 12,84%) та з внутрішньоклітинним АГП (69,56% та 31,07%). Для сублейкемічного мієлозу характерною була дещо інша картина розподілу: спостерігалося зменшення кількості моноцитів з поверхнево-асоційованим АГП (на 21,58%) та збільшення кількості лімфоцитів з внутрішньоклітинним АГП (на 27,77%) від нормативних показників.

Таким чином, у ході дослідження було встановлено, що характер розподілу АГП на поверхні та всередині клітин у популяціях лейкоцитів хворих на хронічні мієлолейкози є більш інформативним критерієм для диференційної діагностики та перебігу даної патології, ніж зміна концентрації АГП у плазмі крові.

Міцевський М., Томчук В., Грищенко В., Литвиненко О.

ФУНКЦІОНУВАННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЗАХИСТУ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ ЗА ДІЇ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ ТА ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ЛІПОСОМ

Національний університет біоресурсів і природокористування України,
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна

Показники, що визначають рівень вільнорадикальних процесів і стан антиоксидантної системи захисту, а отже характеризують функціонування адаптаційних механізмів організму

на клітинному рівні, виступають чутливими тестами на дію різних екзогенних чинників, у тому числі іонізуючої радіації (Барабой, 2006). Додаткове введення до кормів раціону тварин біодобавок – вітамінів, мінеральних елементів, антиоксидантів, рослинних препаратів та інших біологічно активних речовин, як відомо (Битюцький, 2005), стимулює систему антиоксидантного захисту організму та сприяє підвищенню його резистентності.

Метою нашої роботи було дослідити показники про-антиоксидантної рівноваги за дії іонізуючої радіації та при застосуванні ліпосом на основі фосфоліпідів молока.

Для проведення експериментальних досліджень використовували білих лабораторних щурів-самців, масою тіла 180–200 г. Тварин розділяли на групи по десять голів у кожній. І група слугувала контролем (інтактні тварини); ІІ група – тваринам без подальшого опромінення перорально вводили ліпосомальну форму біологічно активної добавки (БАД) FLP-MD (Мельничук, 2007); ІІІ група – тварин тотально одноразово опромінювали рентгенівськими променями в дозі 2,0 Гр; IV група – тваринам вводили БАД FLP-MD упродовж 5 діб, а потім піддавали рентгенівському опроміненню в дозі 2,0 Гр. Щурів декапітували через одну добу. Опромінення проводили на установці РУМ-17. Вміст ТБК-активних продуктів визначали в реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою згідно з (Орехович, 1977). Активність супероксиддисмутази (СОД) досліджували згідно з (Прохорова, 1982), а каталази (Кат) – (Королюк, 1988). Результати досліджень обробляли статистично з використанням комп'ютерної програми MS Excel.

Встановлено, що через 1 добу після опромінення щурів у дозі 2 Гр підвищується вміст ТБК-активних продуктів у препаратах печінки – на 38%, а у сироватці крові – на 66% щодо контролю. Це свідчить про інтенсифікацію вільнорадикального окиснення та порушення функціонування антиоксидантної системи захисту в організмі щурів за дії іонізуючої радіації. За профілактичного введення ліпосомальної форми БАД FLP-MD перед опроміненням, вміст ТБК-активних продуктів у досліджуваних препаратах не відрізнявся від контрольного. Водночас за умов опромінення у досліджуваних препаратах незначно змінюється активність СОД та вірогідно зростає активність Кат у гомогенаті печінки в середньому – на 69%, а в сироватці крові у 2 рази відносно контрольних значень. За умов введення ліпосомальної форми БАД FLP-MD перед опроміненням спостерігається лише підвищення активності Кат у сироватці крові піддослідних тварин. Виявлене зростання активності Кат можна розглядати як реакцію антиоксидантної системи захисту організму на інтенсифікацію вільнорадикального окиснення і активацію багатьох метаболічних процесів. Слід відмітити, що окреме використання ліпосомальної форми БАД FLP-MD на основі фосфоліпідів молока не впливає на показники про-антиоксидантної рівноваги у досліджуваних препаратах.

Таким чином, пероральне застосування тваринам упродовж 5 діб перед опроміненням ліпосомальної форми БАД FLP-MD запобігає розвитку порушень про-антиоксидантної рівноваги. При цьому зазначена біодобавка виявляє антиоксидантні властивості, а отже позитивно впливає на мембранотропні процеси в клітинах опромінених тварин. Передусім, це обумовлено складом БАД FLP-MD, оскільки основним її компонентом є фосфоліпіди молока, а також входять вітаміни (α-токоферол і ретинолу ацетат), що володіють антиоксидантними властивостями.

Москалик Є., Мельникова Н., Деркач Є., Шепельова І.

ВПЛИВ СТРОНЦІЮ НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ У КРОВІ ОТРУЄНИХ КРОЛІВ

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

Токсична дія стронцію в організмі тварин визначається низкою факторів, з яких основні – це вплив на проникність мембран, переведення ряду метаболітів у неактивний стан та зміна активності ферментів. Стронцій може впливати на процеси, які відбуваються в клітині, тільки потрапивши всередину її і зафіксувавшись на субклітинних мембранах. Від того, в якій кількості накопичується метал у тих чи інших структурах, залежить в результаті ступінь можливого пошкодження самої клітини і її систем.

Метою нашої роботи було дослідження активності аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази і лужної фосфатази в крові кролів, отруєних стронцієм.

Отруєння тварин стронцію хлоридом проводилося шляхом щоденного введення стронцію хлориду per os, упродовж 14 діб, з розрахунку 0,006 г/100 на 100 г маси тіла.

Дослідні тварини були поділені на 2 групи:

I – інтактні кролі;

II – кролі, яким вводили стронцію хлорид (у подальшому кролі, отруєні стронцію хлоридом).

Визначення активності ферментів у крові проводилося на біохімічному аналізаторі Microlab-200 (Нідерланди) згідно з методиками, що визначені інструкцією, з використанням стандартних наборів реагентів фірми «Human» (Україна).

Результатами наших досліджень встановлено, що в крові отруєних кролів підвищується активність аланінамінотрансферази на 17%, аспартатамінотрансферази − на 22% і лужної фосфатази − на 34% відносно інтактних кролів, що є характерною реакцією організму на пошкодження клітин печінки та кісткової тканини в результаті токсичної дії важких металів. Саме ураження клітинної мембрани відіграє найважливішу роль у патогенезі ураження сполуками важких металів. Це супроводжується швидкою втратою внутрішньоклітинних компонентів – електролітів, ферментів, що виходять у позаклітинний простір. При цьому зазначені ензими потрапляють у кров через пошкоджену клітинну мембрану гепатоцитів.

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

ЛЕКТИНІНДУКОВАНА АГРЕГАЦІЯ ЛЕЙКОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ

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

Рецепторний апарат плазматичної мембрани є однією з найважливіших систем, що забезпечує життєдіяльність клітини. До складу плазматичної мембрани входять в основному глікопротеїни, вуглеводна складова яких у вигляді олігосахаридних ланцюгів утворює надмембранний комплекс. Глікокон'югати відіграють ключову роль не лише у клітинній рецепції, а і механізмах проліферації, адгезії та міграції. Мембрани клітин є одними з найчутливіших структур на дію радіаційного фактора, а зміна кількості та перерозподіл вуглеводних детермінант є важливою характеристикою функціонального стану клітин. Тому, метою нашої роботи було дослідити зміни у структурі та перерозподілі вуглеводних детермінант у складі поверхневих глікокон'югатів мембран лейкоцитів на фоні хронічного рентгенівського опромінення.

При використанні лектину акації амурської спостерігали зростання ступеню агрегації у 3 рази на 30-ту добу експерименту порівняно до контрольних показників. Такі дані свідчать про те, що у структурі глікопротеїнових рецепторів мембран лейкоцитів зростає кількість сіалових кислот зв'язаних (α2→3)-глікозидним зв'язком. Сіалоглікопротеїни відіграють дуже важливу роль у фізіології нормальних клітин, а збільшення експонування на поверхні клітин сіалових кислот корелює із ступенем ушкодженості багатьох типів клітин.

Низькоінтенсивне іонізуюче випромінювання протягом 30-ти діб призводило до різкого зниження ступеня агрегації, індукованої лектином рицини звичайної, порівняно до показників контролю. Як відомо, β,D-галактозовмісні рецептори характерні для клітин низького рівня диференціації у гранулоцитарному ростку. Таким чином, отримані дані можуть опосередковано свідчити про пришвидшення диференціації і/або старіння лейкоцитів за умов хронічного рентгенівського опромінення. Крім того, знижений рівень β,D-галактозовмісних глікопротеїнових рецепторів на поверхні лейкоцитів може вказувати на недостатню елімінацію лейкоцитів із порушеною функціональною активністю.

Зниження вмісту N-ацетил-β,D-глюкозамінових та N-ацетилнейрамінових детермінант у 2,4, 1,2 та 1,7 рази на 10-, 20-, 30-ту доби опромінення відповідно свідчить про зниження рівня експонування на поверхні клітин комплементарних цьому лектину глюкокон'югатів. Є дані про те, що N-ацетил-β,D-глюкозамін та N-ацетилнейрамінова кислота можуть маскувати різноманітні специфічні рецептори на поверхні клітин. Модифікація сіалових кислот, яка може зустрічатися на слизових оболонках ссавців (наприклад, 9-O-ацетилювання) попереджує взаємодію з

деякими лектинами патогенів. Така модифікація у місцях локалізації сіалогліканів відіграє специфічну захисну роль. Отже, отримані результати вказують на важливе значення рецепторів, чутливих до WGA, у забезпеченні певного рівня функціонального стану лейкоцитів.

Таким чином, встановлено, що хронічне рентгенівське опромінення зумовлює зміни у структурі глікопротеїнових рецепторів мембран лейкоцитів периферичної крові щурів. Зростання вмісту сіалових кислот з'єднаних (α2→3)-глікозидним зв'язком на фоні зниження загальної кількості N-ацетилнейромінових кислот, свідчить про зміну співвідношення сіалових кислот з'єднаних (α2→3) та (α2→6)-глікозидними зв'язками.

Насадюк Х.

ЦИТОПРОТЕКТИВНА ДІЯ ГЕКСАПЕПТИДУ АРГІНІЛ-АЛЬФА-АСПАРТИЛ-ЛІЗИЛ-ВАЛІЛ-ТИРОЗИЛ-АРГНІНУ ЗА УМОВ БЛОКУВАННЯ ЦИКЛООКСИГЕНАЗИ-2 ТА NO-СИНТАЗИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ВИРАЗЦІ ШЛУНКА

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького
вул. Пекарська, 69, м.Львів, 79000, Україна
e-mail: nasadyukch@gmail.com

В останні роки значно розширилися уявлення про роль коротколанцюгових пептидів в регуляції низки біохімічних та фізіологічних процесів, зокрема в механізмах цитопротекції слизової оболонки шлунка (СОШ). Проте не вивченою залишається роль в цих процесах циклооксигенази-2 (ЦОГ-2) та системи оксиду нітрогену.

Мета роботи – дослідити гастропротективну дію гексапептиду аргініл-альфа-аспартил-лізил-валіл-тирозил-аргініну при експериментальній виразці шлунка у щурів при блокуванні ЦОГ-2 целекоксибом та індуцибельної NO-синтази аміногуанідином.

Дослідження виконані на 40 білих безпородних щурах за дотриманням міжнародних вимог щодо роботи з експериментальними тваринами. Стресові ушкодження СОШ викликали введенням адреналіну (2 мг/кг). На тлі стресу тваринам вводили гексапептид аргініл-альфа-аспартил-лізил-валіл-тирозил-аргінін (1 мкг/100 г) як в монотерапії, так і в комбінації з целекоксибом (10 мг/кг) та аміногуанідином (20 мг/кг).Через 24 години тварин декапітували, в гомогенатах СОШ визначали вміст продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК) та нітрит-аніону, активність СОД, каталази, cNOS, iNOS та концентрацію L-аргініну в плазмі крові.

Дія адреналіну призводила до розвитку гострих ульцерогенних ушкоджень СОШ. Статистично достовірно зростала активність NOS та iNOS, вміст NO, відповідно знижувався рівень L-аргініну в плазмі крові. На 57% зростала активність процесів ліпопероксидації в СОШ. Введення аргініл-альфа-аспартил-лізил-валіл-тирозил-аргініну зменшувало площу та характер структурно-геморагічних ушкоджень (СГУ) СОШ, а також активність загальної NOS на 56%, cNOS - на 41%, iNOS – на 62%, вміст нітрит-аніону – на 31%, активність СОД зменшилася на 54%, спостерігалася тенденція до зростання рівня L-аргініну в плазмі крові.

При дії аргініл-альфа-аспартил-лізил-валіл-тирозил-аргініну за умов блокування ЦОГ-2 целекоксибом площа СГУ СОШ на тлі стресу була майже в 2 рази меншою, ніж при ізольованому введенні аргініл-альфа-аспартил-лізил-валіл-тирозил-аргініну. При цьому відмічалась тенденція до зниження вмісту продуктів ТБК (на 16%) та зниження iNOS. Одночасно вімічалось зростання активності СОД.

Введення аргініл-альфа-аспартил-лізил-валіл-тирозил-аргініну за умов блокування iNOS аміногуанідином на 61% зменшувало площу СГУ СОШ у порівнянні з його самостійною дією на тлі стресу. При цьому відмічалось зменшення активності загальної NOS на 13%, iNOS на 30,1%, процесів ліпопероксидації на 11%, зниження нітрит-аніону на 9,4% та активності СОД на 16%. Концентрація L-аргініну у плазмі підвищувалась на 25,9%.

Аргініл-альфа-аспартил-лізил-валіл-тирозил-аргінін справляє цитопротективну дію при експериментальній виразці шлунка у щурів шляхом зниження iNOS, зменшення процесів ліпопероксидації та активності СОД. Виражений гастропротективний ефект відмічався за умов дії аргініл-альфа-аспартил-лізил-валіл-тирозил-аргініну на тлі блокування iNOS аміногуанідином. Зростання цитопротекції при дії аргініл-альфа-аспартил-лізил-валіл-тирозил-аргініну за умов блокування ЦОГ-2 та iNOS свідчить про його інгібуючий вплив на активність прозапальних ферментів.

Оцалюк О.

ПОШУК СИЛЬНИХ РЕГУЛЬОВАНИХ ПРОМОТОРІВ ДРІЖДЖІВ *S. CEREVISIAE,* ЩО АКТИВУЮТЬСЯ ЗА УМОВ АЛКОГОЛЬНОЇ ФЕРМЕНТАЦІЇ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
olga.otsaliuk@mail.ru

Під час алкогольної ферментації пекарські дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* піддаються дії різноманітних стресових факторів навколишнього середовища, серед них високий осмотичний і гідростатичний тиск, висока концентрація етанолу, обмежена кількість кисню та поживних речовин у середовищі. Успішна адаптація дріжджової клітини до цих умов потребує зміни експресії багатьох генів. Попередньо було ідентифіковано гени, експресія яких підвищується за цих умов [T. C. James, 2003]. Промотори, що виявляють максимальну індукцію за умов алкогольної ферментації, придатні для посилення експресії генів, продукти яких сприяють збільшенню виходу етанолу.

Для оцінки ефективності сили промотора за умов алкогольної ферментації була використана інтегративна плазміда, яка містить репортерну касету. Плазміда містить *LAC4* ген дріжджів *Kluyveromyces lactis,* що кодує в-галактозидазу, і *ble* ген, що надає резистентність до антибіотика зеоцину. Промотори генів *DAN1*, *HSP26*, *HSP82 S. cerevisiae* було обрано для дослідження. Ген *DAN1,* що кодує маннопротеїн клітинної стінки, експресується в анаеробних умовах і повністю репресований в аеробних умовах. Щоб підвищити силу промотора гена *DAN1,* частину сильного конститутивного промотора гена *TPI1*, що кодує тріозофосфатізомеразу, було субклоновано перед *DAN1* промотором. До генів, експресія яких найсуттєвіше зростає в умовах алкогольної ферментації, належать гени білків теплового шоку. Ген *HSP26* кодує молекулярний шаперон родини малих білків теплового шоку, що бере участь у правильному згортанні білків. Ген *HSP82* також кодує молекулярний шаперон, що відповідає за складання великих за розміром поліпептидів у біологічно активні структури. Зазначені промотори було клоновано в інтегративну плазміду перед ВРТ гена *LAC4.* Геномна ДНК *S. cerevisiae* була використана як матриця для ПЛР ампліфікації. Сконструйовані плазміди з вищезазначеними промоторами були лінеаризовоні та трансформовані, використовуючи Li/Ac метод у реципієнтний штам *S. cerevisiae* BY4742. Трансформанти були відібрані на середовищі YPD з концентрацією зеоцину 100 мг/л. Наявність відповідних плазмід у геномі трансформантів підтверджено методом полімеразної ланцюгової реакції. Було підібрано умови для ефективного визначення активності в-галактозидази, включаючи склад поживного середовища та тривалість культивування. Визначено активність в-галактозидази у трансформантів, що містили репортерну касету з промотором гена *HSP26*. Показано, що активність в-галактозидази цих трансформантів значно вища за умов анаеробного культивування порівняно з аеробними умовами. Планується визначення в-галактозидазної активності трансформантів з іншими промоторами в умовах алкогольної ферментації та їх порівняння для визначення найбільш ефективного промотора.

[1]Паук І., [1]Росаловський В., [2]Гуль А., [1]Дудок К., [1]Сибірна Н.

ДІЯ СПІРОКАРБОНУ ТА ПОХІДНИХ ПІРОЛОПІРИМІДИНДІОНІВ НА СПОРІДНЕНІСТЬ ГЕМОГЛОБІНУ ДО КИСНЮ КРОВІ ЗДОРОВИХ ДОНОРІВ ТА ХВОРИХ НА АЛКОГОЛІЗМ *IN VITRO*

[1]Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
[2]Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010, Україна

Вивчали вплив спірокарбону (речовина № 1) та двох похідних піролопіримідиндіонів:1,6 -диметил-4-феніл-1,2,3,4,5,7 гексагідропіроло-[3,4-е]-піримідиндіон-2,5(1Н) (речовина №2) і 1,6-диметил-4-(2-трифлуорофеніл)-1,2,3,4,5,7-гексагідропіроло-[3,4-е]-піримідиндиндіон 2,5 (1Н) (речовина №3), як таких, що проявляють біологічну активність (Єресько В.А., Речицький О.Н., 1995), на спорідненість гемоглобіну до кисню у системі *in vitro*.

Відомо, що реакція приєднання і віддачі гемоглобіном кисню є найважливішою функцією цього гемопротеїну. Особливо важливим є те, що нормальне постачання органів і тканин киснем, перш за все, пов'язане з конформаційним станом молекули гемоглобіну, залежить від природи ліганду і регулюється певними метаболітами. Конфірмація гемоглобіну може порушуватися за дії агентів екзогенної чи ендогенної природи. Такими агентами можуть бути речовини, дію яких ми вивчали.

У дослідженнях використовували цільну периферичну гепаринізовану кров практично здорових донорів та кров хворих з діагнозом – алкогольний делірій. Еритроцитарну масу, відділену від плазми, інкубували з приготованими на ізотонічному розчині NaCl (0,150 М) речовинами №1, №2 і №3 у співвідношенні 1:3. Після одногодинної інкубації готували гемолізати, використовуючи 3,3 мМ K,Na-фосфатний буфер pH 7,36. Спорідненість гемоглобіну до кисню вивчали методом побудови кривих оксигенації. Результати досліджень показали, що після інкубації еритроцитів крові здорових донорів у всіх варіантах досліду спорідненість гемоглобіну до кисню достовірно підвищується. Зокрема, за дії речовини №1 спорідненість гемоглобіну до цього ліганду зростає на 33%, речовини № 2 – на 25%, а речовини №3 на – 18% порівняно з контролем.

Попередніми нашими дослідженнями було встановлено, що у хворих на алкоголізм спорідненість гемоглобіну до кисню знижується порівняно з гемоглобіном здорових донорів (Дудок К.П., 2008). У зв'язку з тим, ми вивчали вплив речовин №1, №2 і №3 на процес насичення киснем гемоглобіну хворих з діагнозом – алкогольний делірій. Результати показали, що після інкубації еритроцитів з речовиною № 1 параметр P_{50} у середньому становить 3,79 кПа, з речовиною № 2 – 3,00 кПа, а з речовиною № 3 – 3,68 кПа. У контролі цей показник становить 3,86 кПа. Отже, проведені дослідження вказують на відносну стабілізацію процесу оксигенації гемоглобіну у хворих і підтверджують наші попередні припущення, що використані у дослідженнях сполуки впливають на спорідненість гемоглобіну до кисню.

Обговорюються можливі механізми впливу спірокарбону та похідних піролопіримідиндіонів на спорідненість гемоглобіну до кисню.

Полікарпова Г.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЗМІНИ ЦИТОКІНОВОГО ПРОФІЛЮ ТА ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСУ МОРСЬКИХ СВИНОК ПРИ ВВЕДЕННІ IL-2

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
вул.Свободи, 4, м. Харків, 61077, Україна

Однією з найважливіших самостійних систем регуляції захисних реакцій організму є система цитокінів. Цитокіни та фактори росту є поліпептидними месенджерами сигналів, що, зв'язуючись з клітинами-мішенями за допомогою специфічних мембранних рецепторів, викликають потім ряд клітинних реакцій. Система цитокінів тісно пов'язана з ендокринною, впливає на систему гормонів гіпоталамуса, проте механізми регуляторних впливів цитокінів на ендокринні функції гіпоталамуса вивчені недостатньо. Встановлено, що інтерлейкін-1β (IL -1β), фактор некрозу пухлини-α (TNF-α) та інтерлейкін-2 (IL-2) здатні неопосередковано впливати на центральну нервову систему, суттєво змінюючи синтез ряду гормонів.

Найменш вивченими є питання впливу IL-2 на корекцію цитокінового профілю та функцію залоз внутрішньої секреції. Ці аспекти дії є надзвичайно важливими у зв'язку з реальною можливістю використання його рекомбінантного аналога як засобу імуномодулюючої терапії.

Метою нашого дослідження було вивчення впливу екзогенно введеного IL-2 на вміст прозапальних и протизапальних інтерлейкінів та концентрацію гормонів гіпофізу: адренокортикотропного (АКТГ), соматотропного (СТГ) та надниркових залоз (кортикостерон).

Дослідження проводилися на чотиримісячних самках морських свинок. Тваринам підшкірно вводили розведений у 50 разів Ронколейкін по 0,1 мл (повний структурний та функціональний аналог IL-2 (Roncoleukin, "Биотех", м. Санкт-Петербург)). Визначення вмісту IL-1, IL-2, TNF-α, IL-4 та гормонів проводили імуноферментним методом за допомогою наборів реактивів фірми DKG (Німеччина). Дослідження проводили у динаміці: через 1 годину, 3 і 8 годин після ін'єкції.

Результати дослідження показали, що введення «Ронколейкіну» викликає достовірне збільшення концентрації TNF-α і IL-1β вже через 1 годину після ін'єкції. Проте, якщо подальша динаміка змін рівня TNF-α схожа з динамікою вмісту IL-2, у випадку IL-1β спостерігається поступове зростання його концентрації, яке досягає максимуму в момент зниження IL-2 до контрольного значення. Введення «Ронколейкіну» не призводить до зміни концентрації IL-4 через 1 годину, проте потім спостерігається поступове зниження рівня даного інтерлейкіну.

Як видно з отриманих даних, IL-2 здійснює виражений вплив на вміст TNF-α, меншою мірою впливає на рівень IL-1β та IL-4. Протягом усього досліджуваного періоду вміст IL-2 залишається високим та індукує переважаючу дію прозапальних цитокінів, запускаючи інтерлейкіновий каскад. Тому можна очікувати, що введення IL-2 здійснює імуностимулюючий ефект.

Дослідження рівнів гормонів показало, що введення препарату викликає достовірне збільшення вмісту АКТГ і кортикостерону через 1 годину. Подальша динаміка змін концентрацій даних гормонів схожа на динаміку вмісту IL-2.

Виходячи з результатів експерименту, можна вважати, що IL-2 здійснює активуючий вплив на синтез АКТГ і кортикостерону і практично не впливає на рівень СТГ.

Мабуть, на рівень СТГ значною мірою впливає IL-1β, бо максимальний вміст СТГ у тварин дослідної групи відмічався саме у період максимальної концентрації IL-1β, динаміка змін рівнів даних показників була схожою.

Таким чином, введення IL-2 стимулює активацію каскаду прозапальних цитокінів, а також виражену реакцію з боку гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи та практично не впливає на синтез і секрецію СТГ.

Рогульська О., Онишко Ю., Реміз О., Бараннік Т.

ВПЛИВ ХЛОРИДУ КАЛЬЦІЮ НА ОСМОТИЧНИЙ, ПЕРОКСИДНИЙ ТА ДЕТЕРГЕНТНИЙ ГЕМОЛІЗ ЕРИТРОЦИТІВ ПРИ ДІЇ ХЛОРИДУ ЗАЛІЗА

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
пл. Свободи 4, м. Харків, 61077, Україна
rog-helen@yandex.ru, solncedom@i.ua

Відомо, що гемоліз еритроцитів супроводжує різні патологічні стани і дію стресорних факторів на організм людини. Тривале накопичення у крові гем- і залізовмісних продуктів гемолізу призводить до активації окисних процесів, пошкоджень клітинних мембран і розглядається як одна з основних причин (Woollard et al, 2009) розвитку серцево-судинних захворювань. Як встановлено раніше в нашій лабораторії (Rotan', Chuprina, Guryeva and Barannik, 2009), хлорид заліза (III) викликає в дослідах in vitro зниження осмотичної та детергентної резистентності еритроцитів людини. Враховуючи дані про участь іонів кальцію в регуляції розподілу фосфоліпідів у мембрані еритроцитів і ериптозу (Lang et al, 2005), метою цієї роботи стало дослідження впливу хлориду кальцію на осмотичний, пероксидний та детергентний гемоліз еритроцитів людини при дії хлориду заліза (III).

У роботі використовували еритроцити людини з донорської еритромаси групи А (II), Rh^+ (консервант – глюгіцир). Еритроцити тричі відмивали в ізотонічному буфері, потім інкубували (гематокрит 20%) при 37°С протягом 30 хв в ізотонічному буфері (контроль), в присутності 1мМ $CaCl_2$, або послідовно (по 30 хв) в присутності 0,05% $FeCl_3$, і далі – 1мМ $CaCl_2$. Після осадження еритроцити досліджували на осмотичну, пероксидну або детергентну резистентність. В надосадовій рідині оцінювали накопичення гемоглобіну за поглинанням при 540 нм. При оцінці ступеня гемолізу за 100% брали гемоліз у воді. Осмотичний лізис викликали інкубацією еритроцитів у гіпотонічних буферних розчинах з концентрацією NaCl 3–5 г/л. Детергентний лізис викликали 0,5 мМ додецилсульфатом натрію. Для дослідження пероксидної резистентності еритроцити додатково обробляли інгібітором каталази і далі інкубували в присутності 10 мМ H_2O_2.

Встановлено, що інкубація еритроцитів з $FeCl_3$ і далі з $CaCl_2$ викликає посилення лізису в 1,7 разу порівняно з контролем та інкубацією у присутності тільки $CaCl_2$ в вибраній дозі, що збігається з даними про вплив $FeCl_3$. Дослідження осмотичної резистентності виявило збільшення ступеня гіпотонічного лізису цієї групи еритроцитів в діапазоні концентрацій NaCl від 3,5 до 5 г/л у 1,4–2 рази порівняно з контрольними, або інкубованими тільки з $CaCl_2$. Ступінь

детергентного лізису еритроцитів, проінкубованих з $FeCl_3$ і далі $CaCl_2$, не перевищував ступінь гемолізу контрольних еритроцитів і еритроцитів, інкубованих з $CaCl_2$, в той час як раніше було встановлено посилення детергентного лізису при дії тільки $FeCl_3$. Таким чином, хлорид кальцію у вибраній дозі не запобігає гемолізу та зниженню осмотичної резистентності еритроцитів під впливом іонів Fe^{3+}, але нормалізує резистентність клітин до дії аніонного детергенту.

Інкубація еритроцитів з інгібітором каталази виявила на 30% менший лізис еритроцитів, що були інкубовані з $CaCl_2$, порівняно з контрольними та еритроцитами, які обробляли $FeCl_3$ і далі $CaCl_2$, що може бути наслідком впливу іонів кальцію на фосфоліпідний компонент мембран. Подальша інкубація клітин в ізотонічному буфері протягом 60 хв викликала підвищення в 1,5 рази ступеня лізису еритроцитів, попередньо інкубованих у присутності $FeCl_3$ і далі $CaCl_2$, що може свідчити про накопичення в цих клітинах ендогенного пероксиду водню. Додавання H_2O_2 не викликало подальшого посилення лізису еритроцитів, оброблених $FeCl_3$ і далі $CaCl_2$, в той час як ступінь гемолізу контрольних еритроцитів та еритроцитів, оброблених тільки $CaCl_2$, більш ніж у 2 рази перевищував ступінь лізису в середовищі без H_2O_2.

На підставі отриманих результатів можна припустити, що певна роль у механізмах дії на еритроцити іонів Fe^{3+}, належить процесам, у регуляції яких беруть участь іони кальцію, що може мати практичне значення і потребує подальшого вивчення.

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

СІАЛОВМІСНІ ГЛІКОПРОТЕЇНОВІ РЕЦЕПТОРИ ОПОСЕРЕДКОВУЮТЬ ТРАНСДУКЦІЮ СИГНАЛУ ЧЕРЕЗ PI-3'-КІНАЗНИЙ ШЛЯХ У ПОЛІМОРФНОЯДЕРНИХ ЛЕЙКОЦИТІВ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1 ТИПУ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
iryna_brodyak@yahoo.com

У патогенезі цукрового діабету 1 типу та розвитку його ускладнень дослідники провідних лабораторій світу особливу увагу звертають на порушення в обміні речовин. Метаболічні зміни є не єдиними, проте визначальними факторами розвитку імунних порушень при діабеті. Кінцеві продукти неферментативного глікозилювання, зв'язуючись із рецепторами клітин крові й ендотелію, стимулюють синтез прозапальних цитокінів, які викликають зростання вмісту розчинних і мембранозв'язаних адгезивних молекул, посилюють апоптичну загибель клітин і задовго до клінічних ознак захворювання обумовлюють розвиток хронічного запального процесу в ендотелії судин. Преактивація лейкоцитів за умов цукрового діабету 1 типу у зв'язку зі структурно-функціональними змінами рецепторного апарату може бути зумовлена зміною рівня експресії регуляторної субодиниці p85-альфа фосфатидилінозитол-3'-кінази (PI-3'-кінази), якій надається важливе значення у формуванні локомоторної функції лейкоцитів за умов різної патології.

Вивчення процесів глікозилювання і з'ясування причин їх порушення становить значний інтерес для розшифрування механізмів виникнення різних патологічних процесів, і, відповідно, для їх діагностики і лікування. Різні патологічні стани у людей супроводжуються змінами вуглеводної частини глікокон'югантів, наслідком чого може бути модифікація міжклітинного впізнавання, порушення імунної відповіді, асоціація і агрегація окремих клітин. Порушене глікозилювання спостерігається і при цукровому діабеті. Тому метою нашої роботи було вивчити динаміку транслокації у цитоскелетну фракцію регуляторної субодиниці p85альфа/PI-3'-кінази за умов індукції агрегації поліморфноядерних лейкоцитів сіалоспецифічними лектинами та при дії селективного неконкурентного інгібітора ферменту PI-3'-кінази – вортманіну.

Лектиніндукуючий вплив на функціональний стан поліморфноядерних лейкоцитів здійснюється через шляхи трансдукції клітинного сигналу, у які залучений фермент PI-3'-кіназа. Дослідження динаміки транслокації регуляторної субодиниці p85альфа цього ферменту методом імуноблот - аналізу засвідчило, що в нормі у PI-3'-кіназний шлях передачі сигналу у нейтрофільні гранулоцити, більшою мірою задіяні рецептори, які у своїй структурі мають термінальні сіалові кислоти, зв'язані із субтермінальними залишками галактози та N-ацетилгалактозаміну (б2→3) глікозидним зв'язком.

За умов цукрового діабету 1 типу відбувається преактивація нейтрофільних гранулоцитів, що виражається у передчасній дегрануляції цих клітин, як було показано у наших попередніх роботах. Ступінь преактивованості можна підтвердити тотальною транслокацією регуляторної субодиниці р85альфа PI-3'-кінази із мембранної фракції у цитозольну, вміст якої досягає 95%, що у 4,5 разу більше, ніж у нормі. За умов досліджуваної патології відповіді, пов'язаної із транслокацією ферменту після лектиніндукуючого впливу, не реєструвалося. Це може бути пов'язане зі зміною кількості або структури рецепторів, комплементарних до досліджуваних лектинів, або із порушенням PI-3'-кіназного шляху передачі сигналу у нейтрофільних гранулоцитах за умов діабету.

Яскраво виражене пригнічення транслокації субодиниці р85альфа PI-3'-кінази за сумарної дії вортманіну та лектину акації амурської підтверджує гіпотезу про те, що PI-3'-кіназний шлях передачі сигналу у лейкоцити опосередковується рецепторами, які у складі своєї вуглеводної детермінанти мають сіалові кислоти, приєднані (б2→3) глікозидним зв'язком. *Дослідження були підтримані грантом УНТЦ (Науково-технологічним Центром України), 2008-2010 рр.*

Сахарчук О., Канюка О., Філяк Є., Сибірна Н.

ВПЛИВ НОКАУТУ ГЕНА *PTTG1* *НА* ФАГОЦИТАРНУ АКТИВНІСТЬ МАКРОФАГІВ У МИШЕЙ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
kanokaol@yahoo.com

Ген пухлинної трансформації клітин гіпофізу (*pttg1)* залучений у регуляцію розходження сестринських хроматид клітин ссавців під час мітозу. Незважаючи на те, що існуючі дані опосередковано свідчать про можливий вплив білка PTTG на гемопоез і макрофагзалежну елімінацію старих еритроцитів та апоптичних клітин, механізми такого впливу невідомі. Відсутні також дані про те, як впливає нокаут гена *pttg* на активацію і диференціацію макрофагів та на органогенез селезінки і тимусу.

Методом електронної мікроскопії досліджували морфологічні зміни селезінки і тимусу мишей дикого типу та мишей з нокаутом гена *pttg1*. Дані дослідження показали значне зростання апоптичних лімфоцитів як у селезінці, так і в тимусі мишей з нокаутом гена *pttg1*. У даних органах не було виявлено функціонально активних макрофагів.

Було проаналізовано ефект гена *pttg1* на фагоцитарну активність макрофагів. Для цього було проведено дослідження здатності перитоніальних макрофагів як в умовах *in vitro* поглинати десіалізовані еритроцити. Отримані результати дозволяють припустити, що ген *pttg1* значною мірою впливає не лише на органогенез селезінки і тимусу, але й на фагоцитарну властивість макрофагів.

Середницька К., Конопельнюк В., Галенова Т., Савчук О.

ТРИПТОФАН ДЕКАРБОКСИЛАЗНА АКТИВНІСТЬ У МОЗКУ ТА ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
пр. Глушкова,2, м. Київ; 03127, Україна
kateserednytska@gmail.com

При різних патологічних станах, зокрема при цукровому діабеті (ЦД) 2 типу спостерігаються порушення функціонування серотонінергічної системи, що виявляється у змінах вмісту серотоніну в організмі. Зміни вмісту серотоніну за умов експериментального діабету 2 типу можуть бути пов'язані з надмірним використанням триптофану, попередника серотоніну, у альтернативних метаболітичних шляхах, зокрема, синтезі триптаміну, а також зі змінами активності декарбоксилази ароматичних L-амінокислот (КФ 4.1.1.28).

Метою роботи було визначення активності триптофандекарбоксилази у головному мозку та печінці щурів за умов експериментального ЦД 2 типу.

Досліди проводили на білих нелінійних щурах масою 250-300 г. Експериментальний ЦД 2 типу викликали одноразовим внутрішньочеревним введенням новонародженим щурятам стрептозотоцину з розрахунку 80 мг на 1 кг маси тіла. Розвиток ЦД 2 типу у піддослідних тварин встановлювали через 180 діб на основі рівня глюкози в крові натще (≥7,0 ммоль/л) та за чутливістю периферичних тканин до інсуліну, яку визначали за допомогою інсулін-

глюкозотолерантного тесту. Визначення триптофандекарбоксилазної активності проводили спектрофотофлуориметричним методом (Sangwan, 1998).

У результаті досліджень встановлено зниження триптофандекарбоксилазної активності у печінці щурів на 33,7% за умов експериментального ЦД 2 типу порівняно зі значеннями контрольної групи тварин. Нами не були відмічені зміни триптофандекарбоксилазної активності у мозку щурів з моделлю ЦД 2 типу порівняно з контрольною групою.

Отримані результати можуть свідчити про залучення ферменту триптофандекарбоксилази до патогенезу ЦД 2 типу, оскільки він бере участь у метаболізмі триптофану.

Уженков О.

КОНСТРУЮВАННЯ ШТАМІВ ДРІЖДЖІВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* З МОДИФІКОВАНИМИ ТРАНСПОРТЕРАМИ ГЕКСОЗ, ЗДАТНИХ ДО ПОКРАЩЕНОГО ТРАНСПОРТУ КСИЛОЗИ Й АЛКОГОЛЬНОЇ ФЕРМЕНТАЦІЇ

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

Відомо, що транспорт ксилози здійснюється транспортерами глюкози, проте з низькою афінністю. Специфічні транспортери ксилози не ідентифіковані. Планується сконструювати модифіковані гени транспортерів з підвищеною афінністю до ксилози та зниженою афінністю до глюкози. Для досягнення поставленої мети було запропоновано оригінальну позитивну систему селекції. Селекція базуватиметься на використанні штаму *Δhxt0 S. cerevisiae* у якого делетовано всі 20 відомих транспортерів гексоз і генів ідентифікованих раніше транспортерів гексоз дріжджів *Hansenula polymorpha.*

Дріжджі *S. cerevisiae* нездатні утилізувати ксилозу, тому додавання цієї пентози буде обмежувати поглинання глюкози. Штами, в яких ксилоза буде найбільш ефективно інгібувати ріст на середовищі з глюкозою будуть використані для подальших експериментів. Відібрані штами будуть культивувати на альтернативному субстраті – гліцерині, що має окрему систему транспорту. Буде підібрано мінімальну токсичну концентрацію токсичного аналога глюкози - 2-дезоксиглюкози, що інгібуватиме ріст трансформантів на середовищі з гліцерином. Ксилоза буде відновлювати ріст рекомбінантних штамів шляхом обмеження проникнення 2-дезоксиглюкози в клітину. Відповідно, будуть ізольовані мутантні штами, що формують колонії на нижчій концентрації ксилози. Ріст таких мутантів буде обумовлений збільшенням спорідненості транспортера до ксилози або зниженням спорідненості до 2-дезоксиглюкози або глюкози. Далі буде визначено нуклеотидні послідовності модифікованих транспортерів і виявлено амінокислотні залишки, що визначають специфічність транспорту цукрів.

Для реалізації запропонованої позитивної селекції транспортерів зі зміненою афінністю до ксилози було сконструйовано рекомбінантні штами *S. cerevisiae* з експресією генів *SUT1 P. stipitis*, *AT5G59250* та *AT5G17010 A. thaliana*, що кодують глюкозно/ксилозні транспортери під контролем сильного конститутивного промотора гена *PDC1*, що кодує піруватдекарбоксилазу. Проведена стабілізація отриманих штамів шляхом почергового культивування в неселективних і селективних умовах. У результаті отримано стабільні рекомбінантні штами, що несуть відповідні гетерологічні глюкозно/ксилозні транспортери, які будуть використані для селекції транспортерів із заданими властивостями.

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

ВПЛИВ АГМАТИНУ НА МЕТАБОЛІЗМ ОКСИДУ АЗОТУ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м.Львів, 79005, Україна
lyuta.maryana@mail.ua

Цукровий діабет (ЦД) може супроводжуватися як станом генералізованої недостатності оксиду азоту (NO), так і його гіперпродукції. Активні форми кисню (АФК), особливо супероксиданіонрадикал (O_2^-), при ЦД взаємодіють з NO, порушують утилізацію L-аргініну, прово-

кують утворення кінцевих продуктів глікозилювання. Показано шкідливу роль надлишкової продукції оксиду азоту за умов експериментального ЦД у щурів, пов'язану з активацією індуцибельної NO-синтази та збільшенням кількості NO, який при взаємодії з O_2^- утворює потужний цитотоксичний радикал пероксинітрит (Lundberg, 2009, Iori, 2002, Голиков, 2003).

Ензиматичним шляхом NO утворюється з L-аргініну під дією P-450-подібного гемопротеїну – NO-синтази (NOS). Розрізняють три ізоформи даного ферменту: ендотеліальну, нейрональну та індуцибельну NOS. Крім того, в утворенні NO беруть участь нітритредуктазні системи, які зв'язані із гемвмісними білками, що здатні в дезоксиформі відновлювати нітрити до NO. Показано, що продукти перетворення NO – нітрит-іони - в умовах гіпоксії, яка розвивається за різних патологічних станів, зокрема, ЦД, можуть ефективно знову перетворюватися в NO. В еритроцитах нітритредуктазна реакція каталізується електронодонорними системами за участю НАДН(H^+), НАДФН(H^+), флавопротеїнів і дезоксигемоглобіну (Реутов, 2007, Зінчук, 2003).

Метою нашої роботи було дослідити NO-синтазну та нітритредуктазну ланки циклу оксиду азоту за умов експериментального ЦД на фоні введення продукту декарбоксилювання L -аргініну, попередника біосинтезу поліамінів та ендогенного інгібітора NOS – агматину.

Досліди проводилися на безпородних щурах-самцях масою 120-150 г (n=24). За експериментального ЦД, індукованого стрептозотоцином (70 мг/кг), у крові піддослідних тварин виявлено підвищення продукції NO як NO-синтазним, так і нітритредуктазним шляхами. Введення агматину в дозі 20 мг/кг маси тіла внутрішньом'язово щурам протягом 14 днів практично не змінювало досліджуваних нами показників у контрольних тварин. Проте у тварин з експериментальним стрептозотоциновим діабетом спостерігалося зниження рівня активності NO-синтази в гемолізатах крові за рахунок інгібування цього ензиму та нітритредуктазної активності дезоксигемоглобіну еритроцитів. Це адаптація організму, пов'язана з депонуванням NO. Депонування NO забезпечує, з одного боку, захист від токсичної дії вільного NO в умовах його гіперпродукції, а, з другого боку, може виконувати функції додаткового джерела оксиду азоту при його дефіциті (Zinchuk, 2003). Оскільки оксид азоту є сполукою, що бере участь в управлінні фізіологічними системами організму, депонування його в організмі може мати адаптативний характер і сприяти збереженню систем організму в критичних станах.

Таким чином, подальші дослідження системи L-аргінін / NO та циклу оксиду азоту в цілому є перспективними для з'ясування можливостей корекції ускладнень ЦД за допомогою попередників синтезу NO, зокрема, L-аргініну і його похідних.

[1]Харина Л., [2]Федякова О., [2]Мелікян С., [1]Бродяк І., [2]Янович Д.

АДСОРБЦІЯ Т-2 ТОКСИНУ РІЗНИМИ ТИПАМИ СОРБЕНТІВ У ДОСЛІДАХ *IN VITRO*

[1] Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
[2] Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна
iryna_brodyak@yahoo.com

Мікотоксини – вторинні метаболіти плісеневих грибів, широко розповсюджені в природі. Ці сполуки характеризуються канцерогенним, тератогенним, мутагенним, ембріотоксичним впливом на організм людини і тварин. Одними з найбільш поширених і небезпечних природних контамінатів кормів є трихотеценові мікотоксини, зокрема Т-2 і НТ-2, які продукуються грибам роду *Fusarium* і часто виявляються на території Україні й інших країнах помірної кліматичної зони. Найбільш загрозливою проблемою мікотоксикозів для птахівництва є вживання як основного раціону зерна, зараженого токсинами грибів. Актуальним питанням у цій галузі є своєчасне виявлення мікотоксинів, встановлення їхньої концентрації та введення в раціон профілактичних, корегуючих і нейтралізуючих препаратів та добавок. Оскільки мікотоксини стійкі до впливу більшості хімічних і фізичних факторів, найефективнішим методом їх нейтралізації в кормах є використання адсорбентів. Тому метою нашої роботи було встановити межу витягу токсинів з різних компонентів кормів і дослідити ступінь адсорбції мікотоксинів із кормів при використанні різних типів сорбентів методом імуноферментного аналізу.

Для встановлення ступеня витягу мікотоксинів із різних типів кормів (пшениця, тритикале, ячмінь, кукурудза, горох, сочевиця) до вільних від токсинів компонентів кормів додавали Т-2, НТ-2 токсини та суміш цих двох мікотоксинів у концентрації 10 нг/г. Для відтворення

умов шлунково-кишкового тракту в дослідах *in vitro* до зразків (гомогенізованого зерна з токсином) додавали шлунковий сік, жовч та інкубували при 40єС впродовж 1 год, перемішуючи кожні 10 хв. За ступенем екстракції Т-2 токсину з різних компонентів кормів птиці можна розмістити у такій послідовності: тритикале, ячмінь, пшениця, сочевиця, горох, кукурудза. Найвищий витяг НТ-2 токсину і суміші токсинів отримано при екстракції мікотоксинів з ячменю – 46% і 80%, а найнижчий зі сочевиці – 31% та 66% відповідно.

За умов додавання Т-2 токсину до пшениці нами було проаналізовано ефективність найбільш поширених сорбентів (цеоліт, мікотокс, кормосан, аеросил, гіпохлорит, вугілля). З досліджуваних сорбентів найкращі сорбуючі властивості мав цеоліт, оскільки відсоток екстракції Т-2 токсину при його використанні становив 58%. Враховуючи, що кількість доданого цеоліту (30 мг/г) була найбільшою з усіх сорбентів, можна зробити висновок, що найвищі сорбційні властивості має аеросил. При концентрації лише 10 мг/г цей сорбент проявляв найбільшу ефективність (52% порівняно з контролем). Нижчу адсорбуючу здатність має гіпохлорит - 47% і кормосан – 40%, а найнижчу – вугілля і мікотокс (10% порівняно з контрольними даними). Отже, методом імуноферментного аналізу вивчено ефективність сорбентів при додаванні Т-2 токсину до кормових зразків пшениці. Показано, що найвищу адсорбційну здатність має аеросил, а найнижчу – мікотокс.

Хохла М., Клевета Г., Скибіцька М., Чайка Я., Сибірна Н.

ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ ГАЛЕГИ ЛІКАРСЬКОЇ (GALEGA OFFICINALIS L.) НА ОКРЕМІ КЛІНІКО-ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ

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

Незважаючи на наявність великої кількості цукрознижуючих фармакологічних препаратів (інсулінів і пероральних засобів), проблема пошуку, впровадження та застосування нових високоефективних лікарських засобів залишається надзвичайно важливою. Поряд із традиційними методами лікування цукрового діабету, у наш час актуальними стають альтернативні засоби, які сприяють полегшенню протікання захворювання, зокрема, фітотерапія. Можливості фітотерапії надзвичайно широкі, однак ще достатньо не оцінені. Лікарські рослини, що володіють гіпоглікемічним ефектом, істотно доповнюють цукрознижувальну терапію за умов цукрового діабету. Серед рослин, що володіють цукрознижувальними властивостями, є Галега лікарська. Гіпоглікемічний ефект Галеги лікарської встановлено ще у 1927 році, проте літературні дані про цукрознижувальну дію трави і насіння даного виду суперечливі.

Попередніми нашими дослідженнями було показано, що сумарний спиртовий екстракт Галеги лікарської має значний цукрознижувальний ефект як у здорових щурів, так і за умов стрептозотоцинового діабету. Дія Галеги лікарської за умов цукрового діабету на даний час є недостатньо вивченою і виникає потреба детального дослідженя на рівні змін морфофункціонального стану органів та систем, які найбільше ушкоджуються при діабеті, а саме системи периферичної крові.

Метою роботи було дослідження впливу безалкалоїдної й алкалоїдвмісної фракцій екстракту Галеги лікарської (0,6 г/кг маси) на окремі клініко-гематологічні показники периферичної крові у здорових щурів.

Для дослідження використовували надземну частину Галеги лікарської, з якої виготовляли спиртовий екстракт шляхом настоювання у 96% етиловому спирті в співвідношенні 1:5 при кімнатній температурі. Екстракт упарювали у вакуумі при температурі 55-50^{0}С. Отриманий залишок розділяли на алкалоїдвмісну (препарат №1) та безалкалоїдну (препарат №2) фракції.

Встановлено зниження концентрації глюкози у периферичній крові здорових щурів при введенні препарату №1 на 46% (3-й день) та 54% (6-й день) і препарату №2 на 62% щодо контролю (3-й день), на пізніших етапах експерименту відмічено наближення концентрації глюкози до рівня контрольних значень. Таким чином показано більш виражений цукрознижувальний ефект препарату №2, однак пролонгованість його дії є менш вираженою, порівняно з препаратом №1.

Введення контрольним щурам препарату №2 призводить до зниження концентрації гемоглобіну на 39% та кількості еритроцитів на 46%, а також до значного підвищеня максимального ступеня агрегації еритроцитів.

[1,2]Чень О., [2]Барська М., [2]Бобак Я., [2]Линів Л., [2]Вовк О., [2]Винницька Б., [2]Ігуменцева Н., [2]Стасик О., [1]Чайка Я., [1]Сибірна Н.

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ОКСИДУ АЗОТУ (NO) У ВІДПОВІДІ КЛІТИН МЕЛАНОМ ЛЮДИНИ НА ГОЛОДУВАННЯ ЗА АРГІНІНОМ

[1]Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна, oleh.chen@gmail.com.

[2]Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна

Відомо, що конститутивна активність індуцибельної NO-синтази (iNOS) в клітинах меланоми людини позитивно корелює з несприятливим прогнозом щодо виживання хворих (Grimm E. A,2008). Разом з тим, за умов обмеження вмісту L-аргініну (субстрату NOSаз) у клітинах меланом гальмується ріст (Wheatley D.N.,2005). Однак, в організмі людини дефіцит аргініну викликає небезпеку вазоконстрикції через недостатню кількість вазодилататора - оксиду азоту (NO). Метою дослідження було вивчення впливу компенсації дефіциту NO при голодуванні за аргініном на фенотип злоякісних клітин, включаючи їх здатність до адгезії, росту та апоптозу.

Досліджено відмінні за експресією iNOS клітинні лінії меланом: WM1158 (iNOS-позитивна), SK-MEL-28 (iNOS-негативна). За набором інших ферментів метаболізму L-аргініну ці клітинні лінії не відрізнялись. Активність NOSаз в клітинах досліджуваних меланом була в цілому вищою на повному середовищі культивування (СМ), ніж на середовищі без аргініну (AFM); і на 2 порядки вищою у клітин WM1158, ніж в SK-MEL-28. Імунореактивні смуги, що відповідають нітрозильованому тирозину, виявлялись Вестерн-блот (WB) аналізом тільки в лізатах клітин WM1158 на СМ. На AFM, детектований за допомогою підсиленої хемілюмінесценції сигнал, був відсутній як для WM1158, так і для SK-MEL-28.

Імуно- та лектинофлуоресцентним методами встановлено зниження експресії β3 інтегрину та зменшення кількості сіаловмісних глікопротеїнів у складі адгезивних молекул плазматичної мембрани клітин досліджуваних меланом на AFM за впливу екзо- та ендогенного NO. Виявлені зміни за умов голодування за аргініном можуть спричиняти активацію аноікозу, як однієї з форм апоптозу, індукованого втратою адгезії клітин до субстрату, оскільки взаємодія інтегринів з позаклітинним матриксом ініціює запуск внутрішньоклітинного сигналювання до проліферації та диференціації клітин. Зокрема відомо, що інтегрин-опосередкована активація фосфатидилінозитол-3- кінази (PI3K) та протеїнкінази B/Akt запобігає аноікозу, а інгібування цих ферментів спричиняє індукцію останнього (Legate K.R.,2009).

Активація NOSаз до продукції ендогенного NO за впливу індукторів та додавання до інкубаційного середовища низьких доз екзогенного оксиду азоту у кількостях, співмірних з фізіологічними (0,01 та 0,1 мМ нітропрусиду натрію), сприяли підтримці росту клітин WM1158 та SK-MEL-28 на СМ. На 24 годину інкубації за умови впливу екзо- та ендогенного NO виявлені початкові етапи фрагментації ДНК та розщеплена форма білка PARP детектується в лізатах клітин WM1158 виключно на AFM, що свідчить про запуск каспазо-залежного апоптозу, ймовірно шляхом аноікозу.

Отримані дані свідчать про можливе використання комбінації голодування за аргініном з додаванням екзогенного донору NO для терапії меланом, що може призводити *in vivo* до зміни їх адгезивних властивостей з наступним запуском апоптозу.

Gnatyshyna L., Falfushynska H., Maksymiv N., Blozva N.

VULNERABILITY OF MOLECULAR STRESS RESPONSES IN BIVALVE MOLLUSK ANODONTA CYGNEA TO THE EFFECT OF WARMING

V. Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University
M. Kryvonosa Str, 2, Ternopil, 46027, Ukraine
lesyafoxy@i.ua, Oksana.Stolyar@gmail.com

Although major advances have been made to resolve the mechanisms through which aquatic animals respond to thermal stress (Bagnyukova et al., 2007), little is known about the long-term response to warming. The previous history of the population may significantly alter the adaptive ability of the specimens to the same effect (Falfushynska et al., 2009). Therefore the aim of this study was to compare the sensitivity of the molecular markers of stress to the effect of warming in

the bivalve mollusks *Anodonta cygnea* with different life stories. Mussels from three sites (an agricultural site in the lower portion of the river (A); the cooling pond of nuclear power plant (N) and a forestry site in the higher portion of a river close to the municipal water inlet (F)) were collected in June 2010. After 1 wk of acclimation to 18°C mussels were brought to 18°C, 25°C, or 30°C for 14 days. The state of the glutathione system (concentrations of reduced (GSH) and oxidized (GSSG) forms of glutathione), metal-binding and stress protein metallothioneins (MT) protein levels, the creation of the products of the lipid peroxidation (TBARS) and protein carbonylation (PC), and the activity of lactate dehydrogenase (LDH) in the digestive gland and lysosomal stability in the haemocytes were estimated.

The mollusks from each site showed the peculiarities of some indexes and demonstrated site-dependent responses under the heat loading. The levels of GSH and especially GSSG decreased in the mussels from the F-site and elevated prominently in the mussels from the A- and N- sites. Consequently, the redox index of GSH was elevated by the effect of high temperature in the mussels from the F-site and was decreased in the mussels from two other sites as compare to the respective controls. Lipid peroxidation was more sensitive to the heat effect in the mussels from the N- and especially A-sites, whilst at the F-site the reducing of the level of TBARS was observed after the effect of 25 ^{o}C. The PC levels reduced in the mussels from both F- and N-sites but elevated in the specimens from the A-site after the effect of 30 ^{o}C. The effect of warming provoked the sharp decreasing of the concentration of the MT in the mussels from the F- and N-sites (towards 10 times) and much lesser it's changing in the animals from the A-site. The time of lysosomal stability was decreased in the mussels from the F- and A- sites, but in the mussels from the cooling pond it was elevated by the treatment. According to the determining of LDH activity, most prominent shift to the anaerobic metabolism was observed in the mussels from A site, whilst in two other groups the activation of aerobic processes at 30 ^{o}C was even revealed.

To sum, thermal limits and adaptation were different in bivalves from three sites. The vulnerability of the stress responses in the mussels from three sites to the thermal effect was decreased in order F-site > N-site > A-site. Lesser temperature (25 ^{o}C) caused more significant stress response. Despite MTs are known to be metal-buffering proteins that participate in the distribution of copper, zinc and cadmium in the cells, their involving in the heat stress response in the mussels was evident. The proposed approach can be used in the appreciation of the long-term consequences of the climate changes in the areas with different environmental quality.

This work was granted by the Ministry of Education and Science of Ukraine (#M/13-2009, #M/25-2009) and by Ukrainian Fundamental Research State Fund (#F29/321-2009). The authors are grateful to the Projects leaders, Prof. O.B. Stoliar (Ukraine), Prof. R. Dallinger (Austria), Prof. O.P. Golubev (Belarus) and Dr. J. Gyori (Hungary).

Kliza K., Wójtowicz E., Benedyk M., Chalastanis A., Pieniążek E., Murzyn K., Mizgalska D., Koj A., Jura J.

UBIQUITIN BINDING DOMAINS OF MCPIP AND NF-KB ACTIVITY

Jagiellonian University
Gronostajowa 7 Street, 30-387 Krakow, Poland
katarzyna.kliza@uj.edu.pl, kaffka0@gmail.com)

A gene coding for a novel inflammation-related protein MCPIP (monocyte chemoattractant protein-induced protein) is regulated by several activators and mediators of inflammatory response, such as: IL-1β, TNFa, MCP-1 and LPS. It was found recently that MCPIP has RNase activity and regulates mRNA transcript level of IL-1β, IL-6 and IL-12. The involvement of MCPIP in mRNA degradation critically depends on the presence of PIN domain, possessing RNase properties. Nevertheless, MCPIP was found to be also a negative regulator of NF-kB activity in cells treated with IL-1β or LPS. These properties of MCPIP are not related to the activity of PIN domain. We used bioinformatics to search for other domains in MCPIP, which could be important in regulation of NF-kB activity. This analysis has shown that MCPIP contains two ubiquitin binding domains known as UBA and CUE. We carried out experiments showing that CUE domain is important in regulation of phosphorylation of proteins involved in NF-kB signaling pathway and is responsible for negative

regulation of NF-kB activity induced by IL-1β. Moreover, we demonstrated that MCPIP interacts with proteins engaged in NF-kB signaling pathway and affecting the activity of this transcription factor. We conclude that MCPIP is an important modulator of NF-kB signaling pathway.

Supported by: ACUP FP-6,MTKD-CT-2006-042586 and COST 336/N-COST/2008/0

Shuldyk O., Falfushynska H., Gnatyshyna L.

EFFECT OF THIOCARBAMATE FUNGICIDE ON THE SYSTEMS OF ANTIOXIDATIVE DEFENCE AND BIOTRANSFORMATION IN FISH *CARASSIUS AURATUS GIBELIO*

V. Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University
M. Kryvonosa St. 2, Ternopil, 46027, Ukraine
halynka.f@gmail.com, Oksana.Stolyar@gmail.com

Our previous study (Falfushynska et al., 2009) demonstrated differences between the health status of fish Cyprinidae from two sites in the basin of river Dnister, one located at the beginning of river (Z) and other, in down stream (B). However, some of these differences were intermittent and did not allow us to distinguish clearly the adaptive capability of the molecular system of stress responses in the fish from two sites. Therefore the goal of the present laboratory study was to appreciate the ability of fish from two these sites to form adaptive response of the systems of antioxidative defence and biotransformation under the effect of a widespread thiocarbamate fungicide. Crucian carp *Carassius auratus gibelio* was selected as the focus of the present inquiry because it is a comparatively tolerate fish, which is widely distributed in fresh waters and whose feeding habits expose it to many different types of environmental contaminants (Nilsson and Renshaw, 2004).

The experiments were carried out at the end of June. The specimens of male crucian carp *Carassius auratus gibelio* were collected from two sites (Z, reference site and B, polluted site) and subjected to the effects of thiocarbamate fungicide TATTU (mixture of propamocarb and mancozeb, 0.0091 and 0.091 mg L^{-1}) during 14 days after their acclimation in the aquarium. The set of biochemical indexes chosen for the study included a parameters connected to oxidative stress, the protein levels of metal-induced protein metallothionein (MT); markers of biotransformation of xenobiotics (microsomal ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) and glutathione-S-transferase (GST) activities) in the liver and the level of lipophosphoproteins (Vitellogenin-like proteins, Vtg-LP) in the blood serum for the appreciation of hormonal disruption. Whereas the thiocarbamate fungicides are known by their neurotoxicity, cholinesterase (ChE) activity as a biomarker of the toxicity of TATTU was also determined.

The untreated animals from the polluted site had lower Cu,Zn- and Mn-superoxide dismutase (SOD) and ChE activity, the levels of lipid peroxidation products (TBARS) and protein carbonyls (PC) in the liver and Vtg-LP in the blood serum, but higher levels of glutathione in the liver in comparison with untreated fish from the reference site. Catalase activity, superoxide anion and MT levels were the same in both groups.

Factorial analysis showed that animals demonstrate site-dependent but similar for two concentrations of TATTU responses on the effect of fungicide. If in the group Z these effects lead to the satisfied ability for the adaptation to unfavourable conditions, in the group B, the weakness, oppression or absence of response was shown. Particularly, the elevation of the expression of MT was observed in the group Z, whilst the fish from the group B demonstrated the lost of the ability of MT to bind metals hereupon the concentrations of potentially toxic forms of metals in the tissues were increased. The oxidative stress response was observed in the group Z and the oxidative damage (the decrease of Mn-SOD activity, lipids and protein oxidative injury) – in the group B. The redox-state of glutathione in the gills was especially affected. In the fish from site B, the depletion of ChE activity and increase of Vtg-LP level were revealed. Genotoxicity determined by micronucleus test and hepatosomatic index were higher in the group B. This approach is expected to provide a sensitive tool in the appreciation of the potential environmental danger.

This work was granted by the Ministry of Education and Science of Ukraine (#M/256-2008, #M/567-2009) and by West-Ukrainian BioMedical Research Center. The authors are grateful to the Projects leaders, Prof. O.B. Stoliar (Ukraine), Prof. Y.K. Nam (Republic of Korea).

БОТАНІКА / BOTANY

Бандурко В.

ПРОСТОРОВО-ДЕМОГРАФІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИДІВ РОДУ *STIPA* L. НА ТЕРИТОРІЇ РЕГІОНАЛЬНОГО ЛАНДШАФТНОГО ПАРКУ "КЛЕБАН-БИК"

Донецький національний університет
вул. Щорса, 46, м. Донецьк, 83050, Україна
slava_bandurko@mail.ru

Актуальність еколого-ботанічних досліджень степових угруповань обумовлена як потребами науки (екологічні ніші, потенціали; діагностика та контроль стану збалансованості екосистем), так і практики землекористування та ресурсозбереження. Мета нашої роботи: провести інвентаризацію та демографічний аналіз видів роду *Stipa* L.; розробити науково обґрунтований комплекс заходів щодо збереження та відновлення степових ділянок регіонального ландшафтного парку «Клебан-Бик».

Дослідження проведено на території регіонального ландшафтного парку "Клебан-Бик" (Костянтинівський район, Донецька область) протягом чотирьох вегетаційних періодів 2005-2009 рр. Проведено інвентаризацію та демографічний аналіз видів роду *Stipa* L. Ми досліджували стан окремих формацій ковил за основними еколого-популяційними показниками.

Оскільки всі види роду *Stipa* L. включені до Червоної книги України, дослідження проводили на одних і тих самих ділянках з мінімальним вилученням особин із популяції. Для опису досліджуваних ділянок використовували картку-протокол опису середовища. Загальна площа експериментальних ділянок становила 237 м^2.

У результаті інвентаризаційних робіт на території РЛП "Клебан-Бик" було визначено 13 видів роду *Stipa* L., що свідчить про високу флористичну репрезентативність території стосовно цього роду та є обґрунтуванням для проведення подальших досліджень.

За результатами рекогносцирувальних і геоботанічно-описових робіт встановлено, що в рослинному покриві модельних ділянок домінують *Crinitaria villosa* (L.) Grossh., *Dianthus pseudoarmeria* Bieb., *Euphorbia seguieriana* Neck., *Teucrium polium* L.

Переважна більшість досліджених нами видів роду *Stipa* представлена нечисленними ізольованими популяціями, які займають невеликі площі (за порівнянням із потенційно можливими). У складі таких популяцій відсутні окремі вікові групи, частіше - пре- і постгенеративних особин. Нами виявлено, що у вікових спектрах всіх популяцій з помірним випасанням максимум особин припадає на генеративні та вергінільні (50%). В реінтродукованих популяціях видів роду *Stipa* L. переважають особини молодої частини спектра.

Встановлено, що при 50% проективному покритті ділянок особинами *Caragana frutex* (L.) Koch види роду *Stipa* L. випадають із фітоценозу. Факт свідчить про конкурентні відносини між вищезазначеними видами. У 2008 р. проективне покриття карагани на ділянках, де зростали *S. pulcherrima, S. lessingiana, S. Исrainica,* збільшилося до 55% , а ковили, згідно з нашими прогнозами, випали з фітоценозу. У результаті проведення реінтродукційних заходів (починаючи з 2008 р.) на цих ділянках проективне покриття зазначених вище видів роду *Stipa* L. у 2009 році збільшилося до 30%.

У тих випадках, коли антропогенний вплив призводить до зникнення зі складу рослинних угруповань цих видів, виникає необхідність їх реінтродукції, найбільшу успішність впровадження якої доведено для *S. dasyphylla* і *S. capillata.*

За результатами експериментального спостереження на окремих ділянках РЛП було виявлено деякі закономірності сукцесійних перетворень ковилових степів, що формуються за двома напрямами: випасання та типового заповідання.

За результатами методів активного та пасивного моніторингів стану популяцій видів роду *Stipa* L. нами було складено й успішно запроваджено робочу схему-проект заходів щодо збереження та відновлення степових ділянок РЛП «Клебан – Бик».

Болонна Н., Шпек М.

ВПЛИВ БІОСТИМУЛЯТОРІВ РОСТУ РОСЛИН ЕМІСТИМУ С ТА ВЕРМІСТИМУ НА ПРОДУКТИВНІСТЬ БУЛЬБ РАННІХ СОРТІВ КАРТОПЛІ В УМОВАХ ПЕРЕДКАРПАТТЯ

Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка,
вул. Івасюка,11, м. Трускавець, Львівська обл., 82200, Україна
bolya.n@gmail.com

Отримання врожаю та якості картоплі залежить від багатьох факторів, які умовно поділяються на регульовані і нерегульовані. Регульовані фактори – це скоростиглість сорту, підготовка його до садіння, удобрення, густота садіння, захист від шкідників і хвороб, вплив на систему гормональної регуляції, яка визначає характер росту, утворення нових органів, цвітіння, старіння. Саме на ці показники і впливають біостимулятори росту рослин, які широко розповсюджені в сільськогосподарській практиці.

Регулятори росту рослин – це природні або синтетичні сполуки, які в малих концентраціях здатні зумовлювати значні зміни у рості та розвитку рослин. Потрапляючи в рослину, вони безпосередньо включаються в обмін речовин або чинять на нього певну дію. У результаті змінюється спрямованість біохімічних процесів у життєдіяльності рослин.

Вони впливають на систему гормональної регуляції, яка визначає характер таких найважливіших фізіологічних процесів, як ріст, утворення нових органів, перехід рослин до цвітіння, старіння, стану спокою або вихід із нього.

Польові досліди за темою дипломної роботи проводились у 2009 році на базі навчально-дослідної ділянки ДДПУ ім. І.Франка в 4-пільній польовій сівозміні. Ґрунти навчально-дослідної ділянки, на якій проводилися дослідження,. дерново-підзолисті середньо суглинкові. Названі ґрунти придатні для вирощування всіх сільськогосподарських культур, у тому числі ранніх сортів картоплі.

Програмою наших досліджень передбачалося вивчити вплив біостимуляторів росту рослин на врожайність і якість бульб картоплі нового районованого середньостиглого сорту Санте та перспективного сорту Бела роза. Дослідження проводили за такою схемою: допосадкову обробку бульб проводили біостимулятором росту Емістимом С з розрахунку 7 мл та Вермістимом з розрахунку 7 л на 1 тонну картоплі. Біостимулятори росту розводили у воді, обприскування бульб проводили ранцевим обприскувачем. Друге обприскування проводили у фазі бутонізації рослин картоплі з розрахунку: Емістиму С – 10 мл/га; Вермістиму – 10 л/га.

Отже, ґрунтово-кліматичні умови зони Передкарпаття сприятливі для вирощування високих і стабільних врожаїв картоплі сортів Бела роза і Санте.

Біостимулятори росту рослин впливають на структуру врожаю картоплі, як сорту Бела роза, так і сорту Санте. Найбільша кількість бульб під кущем (10,2-11,9 штук) з найбільшою середньою масою товарної бульби (99-90 г) була встановлена на варіантах при застосуванні біостимуляторів росту рослин Емістиму С. Найвища врожайність ранньостиглого сорту Бела роза (338 ц/га) та середньостиглого сорту Санте (290 ц/га) була встановлена при застосуванні біостимулятора росту Емістиму С у два прийоми. Також високу врожайність (302-279 ц/га) було забезпечено при застосуванні Вермістиму.

Із вивчених нами біостимуляторів росту рослин найкращий ефект було встановлено з використанням Емістиму С.

Гайовий Ю., Ліновицька В.

РІСТ ВИЩОГО БАЗИДІОМІЦЕТУ *SCHIZOPHYLLUM COMMUNE* НА АГАРИЗОВАНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

Національний технічний університет України "Київський політехнічний інститут"
пр-т Перемоги, 37, м. Київ, 03056, Україна
vmail@bigmir.net

Лікувальні властивості дереворуйнуючого вищого базидіального гриба *Schizophyllum commune* були відомі з давніх часів. У східній медицині його використовували для підвищен-

ня імунітету та для лікування гінекологічних хвороб і раку молочної залози. У наш час на основі *S. commune* Fr. за кордоном виробляють лікарські препарати, які мають протипухлинну, протизапальну, антибактерійну, імуномодулюючу та гепатопротекторну дію. У зв'язку з цим актуальним є створення на його основі в нашій країні біотехнологій для одержання з цього гриба лікувально-профілактичних препаратів імуномодулюючої, протипухлинної, антивірусної та іншої дії. Необхідною передумовою створення такої технології є одержання і зберігання чистих культур *S. commune* та проведення скринінгу штамів за різними критеріями. Проте в літературі недостатньо повно описано вплив окремих компонентів поживних середовищ на культурально-морфологічні характеристики цього гриба, що є важливим для контролювання чистоти культури на всіх стадіях біотехнологічного процесу, а також для вибору оптимальних для зберігання штамів умов.

Оскільки синтетичні середовища мають точно визначений склад і є технологічнішими, ніж натуральні чи комплексні, то метою роботи було визначення впливу ряду компонентів (аспарагіну й тіаміну) на морфологію і швидкість росту штамів в умовах поверхневої культури на синтетичних агаризованих середовищах.

У роботі було досліджено 7 штамів вищого базидіоміцета *Schizophyllum commune* отриманих з колекції шапкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г.Холодного НАН України. Особливості росту та морфології цих штамів, а також радіальну швидкість росту визначали при культивуванні на щільних поживних середовищах у чашках Петрі при температурі +28°С. Інокуляцію проводили міцеліальним диском діаметром 4 мм. Поживними середовищами, які використовувалися в експерименті, були: середовище Чапека, синтетичне середовище (Бухало, 1998) з L-аспарагіном (2 г/л), синтетичне середовище з L-аспарагіном (2 г/л) та тіаміном (150 мг/л), а також, для порівняння, комплексне глюкозо-пептонне середовище (ГПС) і натуральне картопляно-глюкозне середовище (КГА).

У результаті проведених досліджень було виявлено штамові відмінності та встановлено, що за швидкістю радіального росту міцелію кращим було КГА та глюкозо-пептонне середовище – від 7,8±0,1 мм/добу у штаму 1761 до 8,9±0,1 мм/добу у штаму 1766. На цих середовищах міцелій ріс дуже щільний, пухнастий, зі слабкою радіальною зональністю, висотою 1-2 мм.

На синтетичних середовищах з аспарагіном і з тіаміном й аспарагіном швидкість радіального росту міцелію у всіх досліджених штамів була дещо нижчою, ніж на КГА і ГПС– від 6,8±0,3 мм/добу у штаму 1761 до 7,9±0,1 мм/добу у штаму 1713. При цьому доданий у середовище тіамін практично не впливав на радіальну швидкість росту колоній, але призводив до збільшення щільності колоній і висоти повітряного міцелію з 0,5-1,0 мм до 2-3 мм. Окрім того, у штамів 1590, 1713, 1761 та 5009 на 15-17 добу на всіх середовищах, крім Чапека, починали формуватися примордії, а на двадцяту добу у штаму 1590 на глюкозо-пептонному середовищі та у штаму 1761 на ГПС та на середовищі з тіаміном і аспарагіном утворювалися плодові тіла.

На середовищі Чапека усі штами росли значно повільніше (1,1-5,9 мм/добу), у вигляді дуже тонкої, прозорої моношарової колонії, без утворення повітряного міцелію та примордій.

Таким чином, для подальших біотехнологічних досліджень *S. commune* в умовах глибинного культивування рекомендовано використання штамів 1713 та 1766 із застосуванням комплексних і синтетичних середовищ з аспарагіном та тіаміном.

Галицький Т.

РІДКІСНІ ТА ЗНИКАЮЧІ ВИДИ У ФЛОРІ БОЛІТ ГІРСЬКИХ МАСИВІВ СВИДОВЕЦЬ І ЧОРНОГОРА В УКРАЇНСЬКИХ КАРПАТАХ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
wuz_k@mail.ru

Українські Карпати є частиною Східних Карпат. Ця територія характеризується високим різноманіттям флори зі значним видовим багатством. Регіон займає тільки близько 5% території України, однак тут зосереджена майже половина всіх видів судинних рослин флори

країни. В останні десятиріччя спостерігається інтенсивне збіднення природних екосистем і зниження їх стійкості, втрата генофонду рослинного світу. Ця проблема є особливо актуальною для Українських Карпат. У зв'язку з цим зростає важливість вивчення фітогенофонду взагалі й раритетної його частини зокрема, а також опрацювання і впровадження ефективних заходів їх охорони. Першим кроком у цьому напрямі є ретельна інвентаризація та облік поширення раритетних видів рослин, зокрема, їх локальних популяцій. Поширення раритетних рослин за флористичними районами Українських Карпат показує, що найбільша їх кількість зосереджена в Чорногорі та Свидовці – 199 і 197 видів відповідно (Крічфалушій, Будніков, 2004).

Метою роботи є дослідження рідкісних і зникаючих видів флори боліт хребтів Свидовець та Чорногора. У практичному сенсі його актуальність визначається проблемою інвентаризації, раціонального використання і збереження як рідкісних та зникаючих видів рослин, так і біологічних ресурсів флори.

Гербарні зразки, які було зібрано під час польових досліджень, опрацьовано згідно із загальноприйнятими методиками. Список видів та їх місцезростань укладено за результатами опрацювання гербарних зразків гербарію Львівського національного університету імені Івана Франка (LW), Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного Національної Академії Наук України (KW), аналізу літературних джерел, гербарних зборів В.І.Гончаренка. Для вивчення видової різноманітності застосовувався морфолого-порівняльний метод. Флористичне районування Українських Карпат прийняте за В.І.Чопиком (1977).

У результаті проведених досліджень встановлено, що флора боліт Свидовця та Чорногори налічує 17 рідкісних і зникаючих видів, які належать до 11 родин. До Червоної книги України (2009) занесено 10 видів, які трапляються на болотах, а саме: *Carex bicolor* All., *Carex davalliana* Smith, *Carex lachenalii* Schkuhr, *Carex pauciflora* Lightf, *Dactylorhiza cordigera* (Fries) Soo, *Dactylorhiza traunsteineri* (Saut. ex Rchb.) Soo, *Oxycoccus palustris* Pers., *Pinguicula vulgaris* L., *Swertia perennis* L., *Saussurea porcii* Degen. До регіонально рідкісних видів Українських Карпат занесено 5 видів, що трапляються на болотах: *Astrantia major* L., *Carex limosa* L., *Comarum palustre* L., *Drosera rotundifollia L.*, *Menyanthes trifoliata* L. (Крічфалушій, Будніков, 2004). Для з'ясування поширення рідкісних і зникаючих видів необхідні додаткові хорологічні дослідження, а для їх охорони необхідно забезпечити збереження болотних екосистем.

Дрозд І.

БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ *LINUM USITATISSIMUM*

Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка
вул. Івасюка, 11, м. Трускавець, 82100, Україна
inessadr@ ukr.net

Тривале вирощування льону олійного в різних природно-географічних умовах привело до того, що під дією зовнішніх факторів сформувались різні за біологічними і морфологічними особливостями форми й різновидності цієї культури. Величезна світова розмаїтість культурного та дикоростучого льону, що виникла під впливом різних кліматичних умов, природного та штучного добору, була зібрана М.І. Вавиловим у результаті його численних експедицій по країнах усіх п'яти континентів (більш 1400 зразків) і стала основою світової колекції ВІР.

Рід Linum L. включає понад 200 видів однорічних і багаторічних трав'янистих рослин, які розповсюджені в усіх частинах світу. Господарське значення має лише один вид – Льон культурний (*Linum usitatissimum* L.), з родини Льонових (Linaceae). Це однолітня рослина висотою від 30 до 120 см.

За морфологічними ознаками генеративних органів культурний льон винятково різноманітний. *Linum usitatissimum* L. має гомостильні квітки та є факультативним самозапильником. У квітці 5 неопадаючих чашолистків і 5 пелюсток, що опадають через 3-5 годин після розк-

риття квітки. Напередодні дня цвітіння в бутонів льону з чашолистків з'являється конус згорнутих пелюсток. Кожна квітка льону відцвітає протягом одного ранку. Тривалість цвітіння однієї рослини льону залежно від метеорологічних умов досягає 9-19 днів. Різні сорти льону цвітуть протягом 15-21 дня (Рижеєва О.І., 1968).

За забарвленням пелюстки льону бувають білі, блакитні, рожеві, фіолетові. Блакитне забарвлення квітки вважається критерієм при доборі кращих високопродуктивних форм. Пиляки бувають блакитними, сірими, жовтогарячими, а тичинкові нитки мають рівномірне забарвлення. Плід - невелика куляста коробочка, з п'ятьма гніздами довжиною 6-10 мм і шириною 6-7 мм. Усього в коробочці утворюється 10 насінин, але при несприятливих умовах кількість їх буває меншою (Кутузова С.М., 1998). Насіння яйцеподібної сплюсненої форми з вузьким трохи зігнутим носиком, покрите оболонкою, під якою містяться ендосперм і зародок. Поверхня насіння гладка з глянсовим блиском. Забарвлення насіння може бути від світло-жовтого до темно-коричневого і залежить від присутності чи відсутності пігменту в їх оболонці. У світовій колекції ВІР число коробочок на рослині коливається від 1 до 200 і більше, а маса 1000 насінин - від 2,1 до 13 г.

Дослідження проводилися на базі навчально-дослідної ділянки Дрогобицького державного педагогічного університету імені Івана Франка протягом 2009 року. Об'єктом досліду були такі сорти льону олійного: Айсберг, Байкал, Ківіка, Південна ніч, Циан.

Результати дослідження показали, що у сорту Айсберг, який створено методом індукованого мутагенезу в Інституті олійних культур УААН, висота рослин становила 55-60 см, вегетаційний період 92-96 днів. Квітка біла, зіркоподібна. Насіння темно-коричневе, маса 1000 насінин – 7,9 г. Байкал – сорт французької селекції, з висотою рослини 62-68 см, тривалість вегетаційного періоду становила 88-94 дні. Квітка фіолетово-синя, відкрита. Насіння коричневе, маса 1000 насінин – 6,6 г. У сорту Ківіка, який створено методом індукованого мутагенезу в ІОК УААН, висота рослин 63-67 см, тривалість вегетаційного періоду 83-89днів. Квітка фіолетово-синя, відкрита. Насіння коричневе, маса 1000 насінин 6,2 г. Сорт Південна ніч створено методом мікрогаметофітного добору з гібридної комбінації в ІОК УААН. Висота рослин 65-70 см, тривалість вегетаційного періоду 92-96 днів. Квітка синя, велика. Насіння коричневе, маса 1000 насінин – 8,2 г. Ціан – сорт льону олійного селекції ВНДІОК (Росія), межеумок. Середньостеблова рослина із широколанцетними листками. Квітка голуба, відкрита. Висота рослин 62-67 см, тривалість вегетаційного періоду 91-94 дні. Насіння коричневе, маса 1000 насінин – 7,9 г.

Отже, вивчення морфологічних особливостей *Linum usitatissimum* L. є перспективним джерелом поліпшення сортименту даної культури.

Заяць А., Фостяк Т.

СИНТАКСОНОМІЯ ТРАВ'ЯНИХ РОСЛИННИХ УГРУПОВАНЬ ОКОЛИЦЬ СЕЛИЩА ТАМАНОВИЧІ ЛЬВІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
andrju@front.ru

На сьогоднішній день рослинність Львівської області описана достатньо повно лише за допомогою фізіономічної класифікації. Через деякі її недоліки виникає потреба у введенні нової класифікації, що дало б змогу не тільки використовувати більш стабільні ознаки при виділенні синтаксонів, а й порівнювати результати з іншими країнами Європи та світу. Говорячи про еколого-флористичну класифікацію, варто відмітити, що на території Львівської області її використовували для класифікації рослинного покриву досить мало. Зокрема, це є територія Розточчя, Сколівських Бескид і територія Великих Дністерських боліт. Сянсько-Дністерська височина належить до тих територій, на яких фітоценологічні дослідження не проводилися. Тому існує ймовірність виявлення нових синтаксонів як для Львівської області, так і для України.

Фактичним матеріалом при проведенні наших досліджень були фітоценологічні описи, зроблені під час експедиційних виїздів. Використовували загальновживану методику фітоценологічних досліджень (система Браун-Блінке), яка передбачає виявлення всього флористичного складу та проекційного покриття кожного з видів. На наступному етапі класифікації для виявлення синтаксонів усіх рангів нами було виявлено діагностичні види для кожного угруповання. Для здійснення даної процедури ми користувалися продромусом Львівської області (Реслер, 2009), списком рівнинних рослинних угруповань, наведени В. Соломахою у "Синтаксономія рослинності України" (Соломаха, 2008), а також продромусом Словаччини (Janisova et al.., 2007).

У результаті нами було виявлено 3 класи, серед яких два – належать до болотної рослинності, та один – до лучної. У класі Phragmito-Magnocaricetea виявлено порядок Magnocaricetalia та два союзи: *Magnocaricion elatae* представлений асоціацією *Caricetum acutiformis*, та *Caricion gracilis* з асоціацією *Caricetum gracilis*.

Клас болотної рослинності Scheuchzerio-Caricetea fuscae вдалося класифікувати тільки до даного рангу. Лучна рослинність в околицях с. Тамановичі представлена класом Molinio-Arrhenatheretea. У порядку Molinietalia виявлено два союзи: Alopecurion pratensis з асоціацією Holcetum lanati, та Calthion, в якому виділено такі – Cirsietum rivularis, Epilobio-Juncetum effusi, та Scirpetum sylvatici.

Природними угруповання можна вважати угруповання класу Phramito-Magnocaricetea та Molinio-Arrhenatheretea союзу Calthion. Для цих угруповань характерна сильна зволоженість субстрату, часто з виходом на поверхню ґрунтових вод. Характерна також наявність одного або кількох домінантів. Угруповання класу Scheuchzerio-Caricetea fuscae та асоціації Holcetum lanati належать до антропогенно змінених угруповань, оскільки в місцях їх локалізації ведуться випасання худоби та викошування. Такий характер помірного використання приводить до збільшення видової різноманітності й утворення відносно багатих у флорстичному плані угруповань.

Каземірська М.

FRITILLARIA MONTANA HOPPE НА ТЕРИТОРІЇ ЛАНДШАФТНОГО ЗАКАЗНИКА МІСЦЕВОГО ЗНАЧЕННЯ "ШЕБУТИНСЬКИЙ ЯР"

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Федьковича, 11, м. Чернівці, 58022, Україна
mariya-arabella@mail.ru

F. montana – південно-європейсько-балканський вид, який в Україні росте на північно-східній межі ареалу. Вид, включений до "Червоної книги України" (1996, 2009), в Додаток I до "Бернської конвенції" (Каталог…, 1999, Вініченко, 2006).

На підставі опрацювання літературних матеріалів, фондів Гербаріїв Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (*KW*), Інституту екології Карпат *(LWKS)*, Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича (*CHER*) та результатів власних польових досліджень встановлено, що у Чернівецькій області *F. montana* відома тільки з Прут-Дністровського межиріччя, де виявлено 8 локалітетів (Каземірська, 2008).

Встановлено, що у Чернівецькій області сім із восьми виявлених осередків *F. montana* розміщені поза межами об'єктів природно-заповідного фонду регіону, охороною забезпечена лише популяція *F. montana* на території ландшафтного заказника місцевого значення "Шебутинський яр". Заказник розташовується на території Романківського лісництва Хотинського держлісгоспу Сокирянського району Чернівецької області і займає площу 794,0 га (Сівак, 2004).

Популяція приурочена до угруповання асоціації *Querceto-Carpinetum stellariosum (holosteae)* на схилі західної експозиці крутизною 15–20°. Зімкнутість крон деревостану становить 0,7-0,8. Деревний ярус формують *Quercus robur* L. (висотою 14-16 м, діаметром 25-30 см),

Carpinus betulus L. (12-14 м; 15-20 см), *Acer platanoides* L.(14-16 м; 17-22 см), поодиноко трапляються *Cerasus avium* (L.) Moench (14-16 м, 20-24 см) та *Tilia cordata* Mill.(14-16 м, 22-25 см). У підліску ростуть *Viburnum lantana* L. (1-2%), *Euonymus verrucosa* Scop. (1-2%), *Lonicera xylosteum* L.(1-2%), *Sambucus nigra* L. (1-2%) і червонокнижний вид *Staphylea pinnata* L. (до 5 %), поодиноко трапляються *Euonymus europaea* L., *Swida sanquinea* (L.) Opiz, *Corylus avellana* L.

Проективне покриття трав'яного ярусу становить 60–70 %. Поруч з *F. montana* зростають *Campanula rapunculoides* L. (7-10%), *Stellaria holostea* L. (7-10%), *Polygonatum latifolium* (Jacq.) Desf. (5-7%), *Hedera helix* L. (5-7%), *Corydalys solida* (L.) Clairv. (5-7%), *Galeobdolon luteum* Huds. (2-3%), *Dentaria bulbifera* L. (1-2%), *Galium intermedium* Schult. (1-2%), *Mercurialis perennis* L. (1-2%), *Anemone ranunculoides* L. (1-2%), *Carex digitata* L. (1-2%), *Scilla bifolia* L. (1-2%), *Lathyrus vernus* L. (1-2%). Поодиноко трапляються *Corydalys cava* (L.) Schweigg. & Korte, *Convallaria majalis* L., *Lathyrus niger* (L.) Bernh., *Anemone nemorosa* L., *Gagea pratensis* (Pers.) Dumort., *Arum besserianum* Schott, *Campanula trachelium* L., *Glechoma hirsuta* Waldst. & Kit., *Lamium maculatum* (L.) L., *Pulmonaria obscura* Dumort., *Poa nemoralis* L., *Euphorbia amygdaloides* L., *Alliaria petiolata* (M.Bieb.) Cavara & Grande, *Asparagus tenuifolius* Lam., *Galium odoratum* (L.) Scop., *Ranunculus cassubicus* L., *Neottia nidus-avis* (L.) Rich., *Viola mirabilis* L., *V. odorata* L., *Geum urbanum* L., *Sedum maximum* (L.) Hoffm., *Aegopodium podagraria* L., *Pyrethrum corymbosum* (L.) Scop., *Hepatica nobilis* Schreb., *Isopyrum thalictroides*L. Виявлені генеративні особини *F. montana* можуть формувати одну-дві квітки.

Майданська Н., Ванзар О., Романюк В.

БІОМОРФОЛОГІЧНА ТА ЕКОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ФЛОРИ ПУТИЛЬСЬКОГО НИЗЬКОГІР'Я

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58001, Україна
vanzar.72@mail.ru

Низькогір'я Путильських Карпат, яке розміщене в центральній частині гірської системи південніше с.Дихтинець, належить до території Буковинських Карпат, які являють собою середньовисотну гірську споруду альпійського віку, що займає майже четверту частину Чернівецької області на південному заході (Жупанський, 1993).

Рослинний покрив Путильського низькогір'я, як і Чернівецької області загалом, є різноманітним і багатим (Горохова, 1970). На флору даного регіону істотний вплив проявляє людська діяльність, яка здатна змінити біоморфологічну та екологічну структуру, зумовивши домінування одних екоморф та зникнення інших (Борсукевич, 2008).

Об'єктом наших досліджень, які проводились упродовж 2008-2010рр., слугував рослинний покрив території Путильського низькогір'я. Предметом досліджень була біоморфологічна та екологічна структура флори Путильського низькогір'я.

Поширення видів рослин на території Путильського низькогір'я досліджували на основі критичного опрацювання матеріалів гербарію Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича (CHER), аналізу літературних джерел і результатів власних польових досліджень.

У результаті проведених нами досліджень встановлено, що флора Путильського низькогір'я налічує 384 види у складі 62 родин. У флорі даного регіону проявляється переважаюче домінування аборигенних видів - 347 (90,4%), а частка адвентивних видів є дуже незначною і становить всього 37 видів (9,6%). За таксономічною ознакою найбільш численними є родини Asteraceae, Fabaceae, Lamiaceae, Poaceae, Rosaceae та Scrophulariaceae. При дослідженні спектра життєвих форм флори Путильського низькогір'я нами встановлено, що домінуючими є трав'янисті види (89,3%), на частку кущів припадає 6%, деревні види становлять 3,9%. Найменшою кількістю представлені напівкущі - 0,8%.

При характеристиці трав'янистих видів рослин як основної біоморфи за тривалістю життєвого циклу нами виявлено значне переважання полікарпічних видів - 277 (80,8%) над монокарпічними -66 (19,2%). При аналізі системи життєвих типів флори Путильського низькогір'я за Раункієром нами встановлено, що домінуючими клімаморфами є гемікриптофіти - 163 види (42,4%) і криптофіти - 121 (31,5%). Найменшою кількістю представлені фанеро фіти - 35 (9,1%) та хаме фіти - 5 видів (1,3%). Для того, щоб розкрити взаємозв'язок рослин і середовища їхнього існування, виявити ступінь пристосованості видів до найважливіших екологічних чинників, нами проведено екологічний аналіз видів досліджуваного регіону. Встановлено, що структура гігроморф флори Путильського низькогір'я представлена переважаючою групою мезофітів (84,1%). На частку гігрофітів припадає 13%, а ксерофіти представлені всього 2,9%. Такий розподіл свідчить про те, що досліджуваний регіон характеризується помірним кліматом, сприятливим для зростання більшості видів рослин. При аналізі структури геліоморф флори Путильського низькогір'я встановлено, що переважною більшістю представлені геліофіти - 259 видів (67,4%), частка сціофітів становить 125 видів (32,6%). Нами також проведено класифікацію флори Путильського низькогір'я за екоценоморфами. Виявлено, що у флорі досліжуваного регіону переважають сіль ванти - 141 вид (36,7%) і пратанти - 83 (21,6%). Найменшою кількістю (від 1,3 до 0,3%) представлені сільвопетрофанти, степанти, петрофанти, псамофанти і галофанти.

Отже, флора Путильського низькогір'я характеризується значною біоморфологічною і екологічною різноманітністю, що є властивим для флори Українських Карпат загалом.

Начичко В.

THYMUS GLABRESCENS WILLD. НА ЗАХОДІ УКРАЇНИ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005
nachichko@rambler.ru

Thymus glabrescens Willd. – один із цікавих і досить «проблемних» видів мінливого та поліморфного роду *Thymus* L. (*Lamiaceae* Lindl.). Згідно з даними літературних джерел (Pawlowski, 1967 a; Jalas, 1972), на заході України проходить східна межа поширення цього південно- та центрально-східноєвропейського виду. Однак серед різних авторів немає одностайної думки як щодо поширення даного виду на теренах України, так і щодо його видової диференціації. Зокрема, це стосується вітчизняних вчених. Багато з них наводять форми *Th. glabrescens* під іншими видовими назвами, що пов'язано з неправильним визначенням виду, у зв'язку із морфологічною подібністю його до кількох інших видів (Клеопов, 1928; Клоков, Десятова-Шостенко, 1932). Як наслідок, у вітчизняних флористичних зведеннях для території заходу України даний вид фактично зовсім не фігурує. Лише С. Фодор (1974) наводить його для передгірного та нижнього гірського поясу Закарпаття, де він трапляється зрідка. С. Мосякін і М. Федорончук, посилаючись на цю роботу, у своєму номенклатурному списку (Mosyakin, Fedoronchuk, 1999) відносять даний вид до таких, що потребують підтвердження у флорі України загалом. Більш інформативними є зведення польських дослідників, які частково охоплювали дану територію (Motyka, 1947; Pawlowski, 1967 a, 1967 b).

Після проведення критичного аналізу літературних джерел, матеріалів гербаріїв LW, LWKS, LWS, гербарних зборів В. І. Гончаренка та власних польових досліджень для заходу України нами були встановлені такіі локалітети *Th. glabrescens*, що підтверджує його наявність у флорі даного регіону: Рівненська обл. Дубенський р-н: с. Смига (Motyka, 1947; 26.06.1939, Motyka, LW 150168); с. Буща (Motyka, 1947). Львівська обл. Жовківський р-н: с. Річки (15.07.2009, Начичко, VN 43, LW). Бродівський р-н: с. Суховоля (Pawlowski, 1967 a); ур. Макітра (с. Гаї) (Pawlowski, 1967 a; 14.06.1936, Motyka, LW 150166). Пустомитівський р-н: с. Підбірці (Pawlowski, 1967 a). Яворівський р-н: смт Немирів; смт Шкло (Pawlowski, 1967 a). м. Львів: (Pawlowski, 1967 a; s. dat., s. coll., LWS 83566, 83567, 83568; 10.06.1880, s. coll.,

LWS 83565; 19.06.1895, Blocki, LW 114151; 28.06.1910, Blocki, LW 113089; 15.05.1946, Попов, LW 114148; 28.05.2010, Начичко, VN 86, LW); м. Винники (Pawlowski, 1967 a; 9.06.2010, Начичко, VN 90, LW). Золочівський р-н: с. Червоне (31.05.1990, Кагало, Кузярін, LWKS 03316); с. Стінка (Pawlowski, 1967 a; 07.1936, Motyka, LW 150162; 05.1982, s. coll., LW 150165); с. Білий Камінь (05.1932, s. coll., LW 150167); с. Колтів (Pawlowski, 1967 a). Івано-Франківська обл. Галицький р-н: с. Бовшів (31.05.2006, Гончаренко, VH 2009, 2019, LW); смт Більшівці (Pawlowski, 1967 a). Городенківський р-н: м. Городенка (Pawlowski, 1967 a). Тернопільська обл. Кременецький р-н: окол. м. Кременець (Motyka, 1947; 15.06.1936, Motyka, LW 150169). Підволочиський р-н: с. Остап'є (Pawlowski, 1967 a; 25.05.1994, Кагало, Сичак, LWKS 05454). Гусятинський р-н: с. Вікно (Pawlowski, 1967 a; 24.05.1994, Сичак, Кагало, LWKS 05395); с. Красне (23.05.1994, Сичак, Кагало, LWKS 05357). Бучацький р-н: м. Бучач; с. Стінка; с. Сокілець (Pawlowski, 1967 a). Чортківський р-н: с. Ягільниця; с. Улашківці (Pawlowski, 1967 a). Заліщицький р-н: м. Заліщики (Pawlowski, 1967 a); с. Касперівці (29.05.1994, Сичак, Кагало, LWKS 05665). Борщівський р-н: с. Шершенівка; с. Глибочок; с. Жилинці; с. Пищатинці; м. Борщів; с. Мушкатівка; с. Іванків; с. Кривче; с. Гермаківка; с. Нивра; с. Михалків; смт Мельниця-Подільська; с. Трубчин (Pawlowski, 1967 a). Хмельницька обл. Чемеровецький р-н: с. Кутківці (13.07.1999, Кагало, Скібіцька, LWKS 09721); Кам'янець -Подільський р-н: с. Пудлівці (6.06.1999, Скібіцька, LWKS 09455); м. Кам'янець-Подільський (5.06.1999, Скібіцька, LWKS 09413).

Подальші дослідження у наведеному регіоні, без сумніву, дадуть змогу розширити наші знання про особливості поширення *Th. glabrescens* у флорі заходу України та України загалом.

Новіков А.

ЖИТТЄВІ ФОРМИ ТА ОСНОВНІ ТИПИ ОРГАНІЗАЦІЇ ПАГОНА АКОНІТІВ СХІДНИХ КАРПАТ

Державний природознавчий музей НАН України
вул. Театральна, 18, Львів, 79008, Україна
novikoffav@gmail.com

Вивчення життєвих форм рослин тісно пов'язано не лише з загальними морфологічними й онтогенетичними дослідженнями, але й із цілісним розуміння умов існування та причин формування тих чи інших морфологічних типів організації їх пагона. До питання організації пагона аконітів і їхніх життєвих форм дослідники зверталися неодноразово (Серебрякова, Полынцева, 1974; Барыкина и др., 1977; Литвиненко, 1977; Зиман, 1985). Проте існуючі публікації більшою мірою стосуються азійських представників роду *Aconitum* L., тоді як карпатські види лишилися поза увагою вчених. Лише для чотирьох видів (*A. anthora* L., *A. variegatum* L., *A. moldavicum* Hacq. та *A. firmum* Rchb.) з тринадцяти, що ростуть на території Східних Карпат (Mitka, 2003; Mitka, 2008), визначено приналежність до певної життєвої форми (Прокопів, 2003). Зважаючи на це, ми спробували з'ясувати особливості організації пагона та вивчити життєві форми решти представників роду з даної території.

Для досліджених видів загалом характерні три основні типи організації надземного пагона: 1) напіврозетковий кліноапогеотропний (Жмылев и др., 2005) зі сильно видовженими наступними міжвузлями; 2) безрозетковий апогеотропний з видовженими міжвузлями; 3) безрозетковий апогеотропний з вкороченими міжвузлями. Перший тип характерний для обидвох представників підроду *Lycoctonum* (DC.) Peterm. – *A. moldavicum* та *A. lycoctonum* L. em. Koelle.; другий – для *A. degenii* Gáyer, *A.×gayeri* Starmühl., *A.×hebegynum* DC., *A. lasiocarpum* (Rchb.) Gáyer, *A. variegatum* та *A. ×cammarum* L. em. Fries. (секції *Cammarum* DC. та *Acomarum* Starmühl. з підроду *Aconitum*), третій – для *A. firmum, A.×nanum* (Baumg.) Simonk., *A.×czarnohorense* (Zapał.) Mitka, *A. bucovinense* Zapał. (секція *Aconitum* з підроду *Aconitum*), а також *A. anthora* з підроду *Anthora* (DC.) Peterm. Для всіх представників секції *Aconitum* характерні зазвичай дві сильно зближені продовгасті бульби; для видів двох інших секцій

підроду – дві або більше кулястих бульб, які часто розташовуються на більш-менш видовжених столонах; у видів підроду *Lycoctonum* підземні органи представлені кореневищами, які здатні до сітчастої партикуляції на пізніх стадіях вегетації. Для *A. anthora* характерною особливістю є присутність кулястих гладких бульб у ювенільних рослин, які пізніше змінюються видовженими дещо зморшкуватими. Для представників підроду *Anthora* у цілому відзначають ряд особливостей, зокрема, схильність до розеткоутворення на ранніх етапах онтогенезу (Литвиненко, 1977), а також приховану здатність до партикуляції бульб (Барыкина и др., 1977), особливий тип будови листкової пластинки, неопадання оцвітини після відцвітання тощо (Mitka, 2003; Новіков, 2009). Це свідчить про справедливість виокремлення даної групи рослин в окремий підрід (Starmühler, 2003).

Для аконітів Східних Карпат характерні дві основні архітектурні моделі пагона: 1) багаторічна трав'яниста з напіврозетковими закритими пагонами (підрід *Lycoctonum*) та 2) багаторічна трав'яниста з однотипними відкритими та закритими пагонами (решта представників роду) (Серебрякова, 1977). Ці моделі реалізуються у три основні життєві форми аконітів: 1) кореневищні партикулюючі напіврозеткові полікарпіки з поліциклічними пагонами 1 типу (підрід *Lycoctonum*); 2) безрозеткові рослини з другим типом пагона, сферичними бульбами на столонах, монокарпічними моноциклічними пагонами (секції *Cammarum* та *Acomarum* з підроду *Aconitum*); 3) безрозеткові рослини з третім типом пагона, видовженими бульбами, монокарпічними моноциклічними пагонами (секція *Aconitum* з підроду *Aconitum* та *A. anthora*). Ми безпосередньо не спостерігали у *A. anthora* партикуляції бульб і схильності до розеткоутворення. Тому вважаємо за доцільне відносити цей вид до третьої життєвої форми. Проте можна припустити, що при детальнішому вивчені онтогенезу та збільшенні вибірки його можна буде віднести до окремої життєвої форми.

Починок Т.

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ВІКОВОЇ АНАТОМІЇ ЛИСТКА *ASTER ALPINUS* L.

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

Під час індивідуального розвитку однойменні органи рослин відображають вікові та модифікаційні морфофізіологічні зміни. У літературі переважно висвітлені проблеми онтогенетичної морфології, натомість віковій анатомії присвячено менше уваги (Барыкина и Гуленкова, 1985). При аналізі життєвих форм все частіше застосовували анатомічні ознаки вегетативних органів. Завдяки анатомічним методам дослідження можна точно визначити природу окремих вегетативних органів, їх вікові зміни на різних етапах онтогенезу, виявити залежність структури від екологічних умов середовища існування, а також уточнити закономірності формування різних життєвих форм і в цілому детальніше усвідомити напрями біолого-морфологічних адаптацій досліджуваних рослин (Барыкина и Чубатова, 1981; Цуцупа, 2009).

З-поміж вегетативних органів рослин саме листок є найпластичнішим органом, проте амплітуда вікової мінливості його структури у різних видів не однакова. Деякі рослини різко відрізняються за формою листкової пластинки та її анатомією, у той час як в інших спостерігається поступовий перехід між ювенільними та зрілими фазами розвитку (Sylvester et al., 2001). Прояв структурної адаптації рослин до умов середовища відображається передусім на будові сім'ядолей і асиміляційних листків. У роботі проаналізовано структуру епідерми листкових пластинок і сім'ядолей рідкісного високогірного виду *Aster alpinus* L. Сім'ядолі зародків мають виражені ознаки початкової диференціації тканин, що пов'язано з ранньою зміною функції запасання на асимілювання. Листкові пластинки зародкових листків майже у 1,5 рази товстіші за листкові пластинки справжніх асимілюючих листків, на поперечному перерізі серповидні. Епідермальні клітини дрібні зі злегка хвилястими антиклінальними стінками,

кожна з яких оточена 6-ма клітинами, волоски опушення поодинокі, одноклітинні. Мезофіл слабо диференційований. Шар клітин стовпчастого мезофілу місцями представлений клітинами, видовженими у площині, перпендикулярній до поверхні пластинки (0,1 мм завд.). Губчастий мезофіл представлений 3-5 шарами округлих клітин (по 0,07 мм завд.), які співрозмірні з клітинами верхньої епідерми. Клітини нижньої епідерми менші у розмірах. Провідний пучок утворений ксилемою та флоемою, причому остання оточена 3-ма шарами клітин коленхіми. Листки дорзо-вентральні, амфістоматичні. Клітини верхньої епідерми дещо більші за розмірами, обриси антиклінальних стінок – хвилясті. Продихів 7-9 у полі зору мікроскопа. Розташовуються вони невпорядковано, кожен з них оточений 5-ма епідермальними клітинами. Клітини нижньої епідерми дещо дрібніші, обриси антиклінальних стінок – звивисті. Продихів 8-10, які менші за розмірами та розташовані впорядковано, а кожен з них оточений 4-ма епідермальними клітинами. Продиховий апарат аномоцитного типу. Досить швидко у листків розвивається світлова (ксероморфна) структура з товстостінною епідермою. Стовпчастий мезофіл представлений 1-2 шарами клітин, а губчастий - 3-5 шарами. Центральна жилка представлена одним провідним пучком, оточена клітинами обкладки та кількома шарами клітин коленхіми.

Сім'ядолі наділені чітко вираженими мезоморфними рисами організації, натомість листки – ксероморфними. У високогірних видів провідні пучки і механічні тканини можуть бути найменш розвиненими, що характерне і для даного виду. На основі отриманих результатів порівняльно-анатомічного аналізу вегетативних органів окремих видів рослин можна сформувати підгрунтя для їх розгорнутої біоморфологічної характеристики.

Свідрак К.

ОСОБЛИВОСТІ ПИЛЕННЯ ОСНОВНИХ АЛЕРГЕННИХ ГРУП РОСЛИН В ОКОЛИЦЯХ МІСТА РАВА-РУСЬКА

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005
katerynasv@gmail.com

На сьогоднішній час аерпалінологічний моніторинг є актуальною науковою і прикладною проблемою, адже пилок рослин, що розповсюджується повітряним шляхом, є причиною виникнення і загострення алергічних захворювань (бронхіальна астма, риніт, кон'юнктивіт, дерматит тощо). Тому виявити в повітрі пилок алергенних видів рослин, ідентифікувати ці види, класифікувати згідно з тривалістю пилення є актуальним завданням аеробіологічної науки.

Метою роботи було провести аеропалінологічні спостереження в околицях м. Рава-Руська і виявити закономірності пилення основних алергенних груп рослин, характерних для цієї території.

Вловлювання пилку проводили гравіметричним методом на висоті 2 м над землею у південно-західній частині м. Рава-Руська з 1 червня 2009 до 1 червня 2010 років. Для виготовлення постійних препаратів була використана гліцерин-желатинова суміш зі сафраніном (Мейер-Меликян и др., 1999). Ідентифікація пилкових зерен проведена з використанням мікрофотографій та описів, поданих у визначниках і довідниках (Куприянова, Алешина, 1972; Куприянова, Алешина, 1978; Мейер-Меликян и др., 1999). Підрахунок пилкових зерен здійснювали при збільшенні 40×15 світлового мікроскопа. Дані, які отримали з 1 см^2 предметного скельця, трансформували в кількість пилкових зерен в 1 м^3 повітря (Bassett et al., 1978). Статистичну обробку матеріалу та побудову графіків проводили за допомогою програми Exel.

У результаті аеропалінологічних досліджень в околицях м. Рава-Руська було виявлено три хвилі в загальнорічному періоді пилення рослин: ранньовесняну, весняну та літньо-осінню. Протягом перших двох хвиль пилення було взято до уваги 7 деревних рослин: *Corylus* (ліщина), *Alnus* (вільха), *Carpinus* (граб), *Ulmus* (вяз), *Betula* (береза), *Fraxinus* (ясен) і Pinus (сосна). Першими в повітрі з'явилися пилкові зерна ліщини і вільхи (друга декада

лютого). Пік пилення цих рослин припав на другу декаду березня. Саме в цей час почав пилити в'яз. Максимальна кількість його пилку була виявлена в третій декаді березня. З максимумом пилення ліщини, вільхи та в'яза збігся початок пилення граба та ясена. Пік пилення ясена припав на першу декаду квітня, а граба – на другу. На початку квітня з'явилися в повітрі пилкові зерна берези. Максимальна концентрація її пилку спостерігалась у середині квітня, коли палінопродуктивність ліщини, вільхи та в'яза значно знизилася. Максимальна концентрація пилку сосни виявлена в першій декаді травня.

Літньо-осіння хвиля пилення представлена пилком таких трав'яних рослин, як *Urtica* (кропива), *Chenopodiaceae* (лободові), *Plantago* (подорожник), *Rumex* (щавель), *Poaceae* (злакові), *Artemisia* (полин) і *Ambrosia* (амброзія). У другій декаді червня в повітрі з'явилися пилкові зерна кропиви, лободових, подорожника, щавлю та злакових. Вони були наявні в атмосфері до кінця вересня. Пік їхнього пилення припав на серпень. Пік пилення щавлю відбувся у червні. Після третьої декади серпня пилкових зерен щавлю в повітрі не виявлено. На початку липня з'явилися пилкові зерна полину й амброзії. Для них характерний найдовший період пилення. Пік палінації цих рослин припав на серпень.

Отримані дані свідчать про те, що в повітрі постійно наявний пилок, який більшою чи меншою мірою спричиняє алергічні захворювання – полінози. Тому важливо в кожному регіоні створювати пункти аеропалінологічного моніторингу, проводити довгострокові дослідження закономірностей цвітіння рослин і складати календарі їх пилення.

Dzunenko E., Prosyannikova I.

OBLIGATE-PARASITIC MICROMYCETES IN RODNIKOVOE VILLAGE OF CRIMEA

Taurida V.I. Vernadsky National University,
Vernadsky Ave. , 4, Simferopol, 95007, Ukraine
aphanisomenon@mail.ru, disa005@mail.ru

According to "the Convention on Biological Diversity", accepted by the UN and ratified by Ukraine, the objects under protection are recognized set of species of plants, animals and microorganisms with the environment of their existence, i.e. ecosystems. To ensure the effective protection of these ecosystems requires prior detailed study of all their constituent parts, which include obligate-parasitic micromycetes. Due to the fact that each floristic region is characterized by its own mycoflora, which changes according to migrations of fungi, it is necessary for periodic surveys of specific areas to identify new or little known diseases of plants.

The aim of our research was to study the species' diversity of phytotrophic fungi in the vicinity of Rodnikovoye village, Simferopol district. Rodnikovoe and its surroundings is a part of the natural forest-steppe zone of Crimea and is characterized by a significant degree of infraction of vegetation communities because of the creation of agrophytocenoses (fields, orchards, vineyards, etc.), as well as intensive cattle grazing. Gathering of herbarium specimens of parasitic fungi of plants was carried out during two vegetation seasons 2007-2008 after having made a detailed route around village Rodnikovoye, Simferopol region, Crimea. As a result of mycological studies, we found 39 species of 16 genera of parasitic fungi and 3 divisions. The dominant representatives are the species of Basidiomycota - 18, represented by 46,2 % of the total number of species, somewhat smaller are representatives of Ascomycota - 14 species (35,9 %) and significantly less - the representatives of Oomycota division - 7 (17,9 %). The species composition of obligate- parasitic fungi, recorded in the vicinity of the village Rodnikovoye in 2007-2008 is given in the proposed list below:

Order Peronosporales: *Albugo candida* (J.F.Gmel.ex.Pers) Kuntze *var.candida* Biga, *Aldugo tragopogonis* (Pers.ex Gray) J.Scbrot., *Bremia lactucae* Regel, *Peronospora aestivalis* Syd., *Peronospora astragalina* Syd, *Peronospora ranunculi* Gaum., *Peronospora alsinearum* Casp.

Order Erysiphales: *Arthrocladiella mougeotii* (Lev.) Vassilkov, *Blumeria graminis* (DC.) Speer, *Erysiphe cruchetiana* Blum., *Erysiphe polygoni* DC., *Erysiphe convolvuli* DC., *Leveillula duriaei* (Lev.) U.Braun, *Microsphaera alphitoides* Criff.et Maubl., *Podosphaera leucotricha* (Ellis et Everth.)E.S. Salmon, *Sphaerotheca pannosa* Lev., *Sphaerotheca fusca* (Fr.) Bium.em U.Braun,

Sphaerotheca ferruginae (Schlecht.: Fr) Junell, *Sphaerotheca euphorbiae* (Cast.) E.S.Salmon., *Pseudoidium sp.*Y.S.Paul et J.N.Kapoor, *Oidium* sp. Link.

Order Uredinales: *Phragmidium sanguisorbae (DC.) J. Schröt, Phragmidium mucronatum* (Pers) Schltdl, *Puccinia poarum* Nielsen, *Puccinia graminis* Pers., *Puccinia falcariae* (Pers.) Fuckel, *Puccinia recondita* Roberge, *Puccinia magnusiana* Korn, *Puccinia calcitrapae* (DC.), *Puccinia allii (DC.) F. Rudolphi*, *Puccinia caricina* DC., *Puccinia phragmitis* (Schumach.) Konr, *Puccinia menthae* Pers., *Puccinia isiacae* (Thuem) Wint, *Puccinia variabilis* Grev, *Uromyces trifolii-repentis* Liro ex Liro, *Uromyces trigonellae* Pat., *Uromyces ononidis* Pass.

Order Ustilaginales: *Ustilago poarum* McAlpine.

Parasitic micromycetes are revealed on 44 species of plants from 38 genera of 12 families and 1 divison. The most infected by phytopathogenic families of flowers are Poaceae (12 species), then follows the family Asteraceae (10 species) according to the number of species, and the third place takes a family Fabaceae (9 species).

Woźnicka A.

PHILOGENETICAL RELATIONS OF THE GENUS *CORNUS*

Poznan University of Life Sciences
ul. Wojska Polskiego 71 c, 60-625 Poznań, Poland
botanika@up.poznan.pl

The genus *Cornus* consists of about 58 species of mostly shrubs and small trees and rarely perennial herbs with woody rhizomes. It is widely distributed in the northern hemisphere. One species is endemic to tropical Africa and two species are endemic to South America. The genus is morphologically heterogeneous, various types of inflorescences, various colors of fruits, various chromosomes, among other characters. Due to the great morphological diversity, the taxonomy and phylogenetic relationships of subgroups within the genus are highly controversial, although the monophyly of *Cornus* is strongly supported by morphological and molecular data.

The genus has been divided into several (up to 6) distinct genera or into various numbers (4-10) of subgenera or sections. Different authors have recognized a total of ten subgenera of *Cornus* at one time or another. These subgenera have been named: *Yinquania* (Zhu) Murrell, *Kraniopsis* Raf., *Mesomora* Raf., *Afrocrania* Harms, *Cornus*, *Sinocornus* Xiang, *Discocrania*, *Cynoxylon* Raf., *Syncarpea* (Nakai) Xiang, *Arctocrania* Endl. Ex. Reichenbach. There are also the four major groups which have been resolved by Fan & Xiang: Blue- or White-fruited Dogwoods (BW), Cornelian Cherries (CC), Big-bracted Dogwoods (BB), Dwarf Dogwoods (DW). Relationships among these groups suggested by analyses of *Cornus* using chloroplast DNA data are different from those suggested by morphological data. Different debates have been summarized in various studies in pollen morphology, wood anatomy, floral anatomy, phytochemistry, cytology and inflorescence development. Although these relations are still incompletely resolved. To solve relationships of the genus *Cornus*, additional phylogenetic analyses of morphological and molecular data are necessary.

Żurowska S., Kojder B., Walińska K.

BIODIVERSITY OF HERBS IN BOTANICAL GARDEN OF ZIELONA GÓRA

University of Zielona Gora
65-516 Zielona Gora, Poland
sandrazurowska@gmail.com
kwalinska@gmail.com

The original Botanic Garden in Zielona Góra (Grunberg before World War II) has been found in the 20s of 20th century. The main designers of it were: Leberecht Migge and Hermann Jansen. The garden had the area of approx. 2 hectares. After the WW II the garden was destroyed and in the end of the 50s of 20th century the present Builders' Technical School was built on the ground of the garden. The idea of reconstruction of the garden originated in the late nineties of the twentieth cen-

tury. The present one was opened in 2007. It has the area of 2,43 hectares. There are over 500 species of plants in several zones: Europe, Asia, Americas and Poland.

2010 is the United Nations' International Year of Biodiversity. Botanical gardens are designed to promote and enhance the biodiversity. Specifically, the mission of these gardens is to promote public awareness, appreciation, and conservation of plant life in the environment.

The main aim of this work was to approach biodiversity of herbal plants and to take detailed stock of them in Botanical Garden in Zielona Góra. The obtained results are based on conducted research herbal plants in this garden in 2008-2010. Herbal plants have been classified with the relative place of origin and have been also compared qualitative and quantitative. We determined the flowering period and ecological requirements.

Qualitative and quantitative changes in the collection of herbal plants were observed during the term of our investigations. The ***analysis*** of the ***factors*** affecting these ***changes was done***.

ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ / GENETICS AND BIOTECHNOLOGY

Антоненко Л., Ільєнко В., Клечак І., Огороднік Ю.

РІСТ І МОРФОЛОГІЯ БАЗИДІАЛЬНИХ ГРИБІВ *CORIOLUS HIRSUTUS, C. PUBESCENS* І *C. VILLOSUS* В ГЛИБИННІЙ КУЛЬТУРІ

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»
просп. Перемоги, 37, корпус 4, м. Київ, 03056, Україна
prombt@ukr.net, o.july1990@mail.ru

Вищі базидіальні гриби роду *Coriolus* Quel (*Trametes* Fr.) знаходять прикладне застосування в деревообробній, харчовій і легкій промисловості, сільському господарстві та медицині. Так, наприклад, у промислових масштабах шляхом культивування базидіальних грибів виду *C.hirsutus* на деревині буку отримують мікодеревину (W. Luthard, 1959). Така деревина може виступати альтернативою деревині ліванського кедру, з якого виготовляють олівці, лінійки та лекала.

Відомий спосіб біохімічного очищення коньячної барди (нецільового продукту виноробної галузі) (патент UA 10287 A), суть якого полягає в біотрансформації важкоокислюваних речовин коньячної барди з використанням базидіального гриба *C.villosus*.

Горшиною О.С. спільно із ЗАО «Мікротеп» (Росія) розроблений біотехнологічний спосіб виробництва сухої міцеліальної субстанції *C.pubescens,* що має протипухлинну та імунізуючу дію (Горшина О.С., 2002, 2005, 2008). Технологія передбачає вирощування міцеліальної маси гриба в умовах глибинного культивування на рідких середовищах, що містять у ролі основного джерела вуглецю сировину рослинного походження.

Таким чином, підбір умов глибинного культивування власних штамів вищезгаданих видів базидіальних грибів є актуальним і дозволить значно розширити можливості їх застосування в різних галузях народного господарства.

Метою даного експерименту було вивчення ростових і морфологічних особливостей базидіальних грибів роду *Coriolus* на середовищах різного складу в глибинній культурі. Об'єктами дослідження були 7 штамів *C.hirsutus*, 1 штам *C.villosus* і 1 штам *C.pubescens,* отримані з Національної колекції Інституту ботаніки ім.М.Г.Холодного НАНУ. У ролі поживних середовищ були використані: пивне сусло 8° за Балінгом, молочна сироватка, глюкозо-пептонне, глюкозо-амонійне, картопляно-глюкозне, середовище Норкранса.

Дослідження росту видів *C.hirsutus, C.pubescens* і *C.villosus* на середовищах різного складу в глибинній культурі дало змогу визначити, що найактивнішим продуцентом біомаси, порівняно з іншими, є штам 1009 *C.villosus,* для якого зареєстрована максимальна концентрація біомаси на комплексних середовищах: глюкозо-пептонному (2,23±0,11 г/дм^3 біомаси, економічний коефіцієнт 34%) та картопляно-глюкозному (1,82±0,06 г/дм^3 біомаси, економічний коефіцієнт 36%). Серед штамів виду *C.hirsutus* найвище значення концентрації біомаси зафіксовано для штамів 358, 5019 і 5137 (1,43±0,04, 1,21±0,04 і 1,06±0,03 г/дм^3 біомаси відповідно). Штам 322 *C.pubescens* характеризувався низькими показниками росту на всіх досліджуваних середовищах.

Морфологічні особливості видів при глибинному культивуванні були такі: для виду *C.hirsutus* був характерним ріст у вигляді гладеньких кульок різного розміру або ж агломератів неправильної форми. Для штаму *C.villosus* була притаманною наявність овалів і кульок з ледь помітними ворсинками. Штам *C.pubescens* на більшості середовищ ріс у вигляді гладеньких кульок, виняток становила морфологія росту на молочній сироватці у вигляді кульок-«зірочок».

Таким чином, за результатами скринінгу для подальших мікологічних і біотехнологічних досліджень обрано штами, що характеризуються достатньо високими показниками накопичення біомаси, *C.villosus* 1009 і *C.hirsutus* 358, 5019, 5137. Для збільшення виходу біомаси обраних штамів рекомендовано використовувати для культивування рідкі середовища: глюкозо-пептонне і картопляно-глюкозне.

Антонюк М., Єфіменко Т.

ХРОМОСОМНА ЛОКАЛІЗАЦІЯ ІНТРОГРЕСІЙ З ГЕНОМ PM В ЛІНІЯХ TRITICUM AESTIVUM/AEGILOPS SPELTOIDES

Національний університет «Києво-Могилянська академія»
вул. .Г. Сковороди, 2, м. Київ, 04655, Україна

М'яка пшениця (*Triticum aestivum* L.), що є однією з найважливіших сільськогосподарських культур у світі (Huang, 2004; Hysing, 2007), вражається великою кількістю хвороб і шкідників. Однією з головних хвороб пшениці за поширенням та економічними втратами, до яких вона призводить, є борошниста роса - хвороба, яку викликає *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (Stepien, 2002; Feng, 2004). Вирощування стійких сортів пшениці є найбільш ефективним, економічно вигідним та екологічно безпечним методом боротьби з борошнистою росою та іншими хворобами (Srnic, 2003). Тим не менше, через здатність збудників хвороб мутувати, формувати нові раси, відомі гени стійкості досить швидко втрачають свою ефективність (Stepien, 2002; Yehuda, 2003). Таким чином виникає потреба пошуку та залучення до елітних сортів нових генів стійкості до хвороб та шкідників пшениці, і, зокрема, до борошнистої роси. Важливим джерелом генів стійкості є дикорослі родичі пшениці (Bansal, 2008; Bhullar, 2010). Серед них важливе місце займає *Aegilops speltoides* (Faris, 2008; Dundas, 2008). Перенесення чужинних генів до геному м'якої пшениці здійснюється методами хромосомної інженерії, одним з етапів якої є хромосомна локалізація чужинних інтрогресій у геномі створених інтрогресивних ліній. Метою цього дослідження була хромосомна локалізація фрагментів чужинного хроматину, які входять до складу геному інтрогресивних ліній — похідних виду *Aegilops speltoides*, стійких до борошнистої роси.

У роботі використовувався такий рослинний матеріал: сорт озимої м'якої пшениці *Triticum aestivum* L. (AABBDD) Аврора (2n=42); синтетична геномно-заміщена форма Авродес (AABBSS), амфідиплоїд, який об'єднує у складі свого геному тетраплоїдний компонент сорту м'якої пшениці Аврора (AABB) та геном SS диплоїдного виду *Aegilops speltoides* (Антонюк, 1995); 89 гексаплоїдних ліній пшениці, одержаних від схрещування сорту Аврора з Авродесом (Антонюк, 1995). Всі лінії характеризуються стійкістю до борошнистої роси від 7 балів (ураження листкової пластинки оцінюється як менше 20%) до 9 балів (на листкових пластинках ознак ураження немає).

Рослинний матеріал було проаналізовано за електрофоретичними спектрами глютенінів (гени, що кодують глютеніни розташовані на хромосомах 1-ї гомеологічної групи), гліадинів (1-ї та 6-ї групи), бета-амілази (4 та 5 групи – 4AL, 5AL і 4DL), альфа-амілази (6 та 7 групи). Екстракцію і електрофорез білків, а також візуалізацію компонентів спектрів, проводили за методикою, детально викладеною у Антонюк, 1995.

За результатами аналізу електрофоретичних спектрів білків інтрогресивних ліній м'якої пшениці було встановлено гомеологічну належність притаманних їхньому геному інтрогресій. Серед 89 вивчених ліній 9 ліній мають інтрогресію від *Ae. speltoides* у складі довгих плечей хромосом шостої гомеологічної групи, 4 лінії —інтрогресію у складі довгих плечей першої гомеологічної групи хромосом, 8 ліній —інтрогресію у складі коротких плечей хромосом цієї ж групи. Ген стійкості до борошнистої роси, перенесений від виду *Ae. speltoides*, локалізований на довгому плечі хромосом шостої гомеологічної групи або у складі хромосом першої гомеологічної групи.

Антонюк М., Мельниченко Ю., Прокопик Д.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ МІКРОСАТЕЛІТНОГО МАРКЕРА ГЕНА-ПРОМОТОРА ОСТИСТОСТІ У ТВЕРДОЇ ПШЕНИЦІ *TRITICUM DURUM* DESF.

Національний університет «Києво-Могилянська академія»
вул. Г. Сковороди, 2, Київ, 04655, Україна

Порівняно добре досліджено генетичний контроль ознаки остистість у пшениці м'якої *Triticum aestivum*: ознака підконтрольна трьом домінантним генам-інгібіторам – *Hd*, *B1* та *B2* на хромосомах 4AS, 5AL та 6BS відповідно. Щодо пшениці твердої, то таких чітких даних

досі немає, та відомо, що контроль ознаки остистість у неї може бути відмінним від такого у пшениці м'якої. Повідомлялося про наявність у геномі пшениці промоторів остистості, проте вони ще не були локалізовані ні на твердій, ні на м'якій пшениці. Вивчення генів-промоторів є важливим з кількох причин. По-перше, ості є адаптивною ознакою, зокрема за посушливих умов. По-друге, ці гени відносяться до гомеотичних генів, тому їх вивчення важливе для розуміння процесів раннього розвитку цих біологічних виів (Jiang, 2006; Elbaum, 2007).

Для роботи в якості рослинного матеріалу використали три генотипи пшениці твердої *Triticum durum* Desf., контрастних за ознакою остистість, – Мутіко італікум (MI, безоста), Леукурум (остиста), Рубрум (із остеподібними відростками). Досліджували дві популяції F_3 від двох різних комбінацій схрещування, отримані методом SSD від рослин F_2: Рубрум х MI та MI х Леукурум. За даними попередніх досліджень між батьківськими генотипами Рубрум та MI існує моногенна різниця (щодо домінантного інгібітора остистості *B1* на хромосомі 5A), а між MI та Леукурум – дигенна (ген-промотор B_n та ген-інгібітор *B1*). У популяціях F_3 очікувалося розщеплення 5 безостих : 3 остистих і 15 безостих : 34 остеподібні відростки : 15 остистих відповідно, що підтверджується емпіричними даними (Прокопик, 2009).

Використовуючи методи ПЛР і електрофорезу в поліакриламідному гелі за денатуруючих умов популяції F_3 було проаналізовано із застосуванням чотирьох пар праймерів до мікросателітних локусів, локалізованих на хромосомі 5A, та двох пар праймерів до SSR-локусів на хромосомі 6B. У всіх випадках за алелями мікросателітних локусів спостерігалося розщеплення 3:3:2 для двох типів гомозигот і гетерозигот відповідно, крім одного. У комбінації MI х Леукурум розщеплення за алелями мікросателітного локусу *barc178* не відповідало теоретично очікуваному. Серед класу остистих рослин статистично достовірно переважали рослини з алелем за локусом *barc178*, властивим остистому компоненту схрещування Леукурум. Оскільки цей локус розміщений на хромосомі 6B, тому зроблено припущення про локалізацію промотора остистості на цій же хромосомі. Оцінку зчеплення між локусом *barc178* та геном B_n проводили за допомогою методу максимальної правдоподібності Lod scores (Dizier, 1996). Отриману величину рекомбінації $\Theta = 0{,}25$ із застосуванням функції Козамбі перевели в одиниці карти й отримали відстань 27,5 сМ.

Отже, за зчепленням з мікросателітним локусом, локалізованим на хромосомі 6B, промотор остистості B_n локалізований на цій хромосомі на відстані 0,27 сМ від мікросателітного локусу *barc178*.

Антонюк С., Пирог Т., Шевчук Т.

ІНТЕНСИФІКАЦІЯ СИНТЕЗУ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН ЗА УМОВ РОСТУ *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* К-4 НА ЕТАНОЛІ

Національний університет харчових технологій
вул. Володимирська, 68, м. Київ, 01601, Україна
tapirog@usuft.kiev.ua

Штам *Acinetobacter calcoaceticus* К-4, ізольований нами із забрудненого нафтою грунту, синтезує поверхнево-активні речовини (ПАР) на гідрофільних (етанол) і гідрофобних (*н*-гексадекан) субстратах. Слід зазначити, що нині у літературі практично відсутні дані щодо здатності бактерій роду *Acinetobacter* синтезувати низькомолекулярні ПАР, а також щодо синтезу мікроорганізмами ПАР на етанолі. Враховуючи, що цей водорозчинний субстрат на порядок дешевший за «нетехнологічні» водонерозчинні гідрофобні сполуки, його використання для одержання ПАР може суттєво знизити вартість кінцевого продукту. Одним із підходів до підвищення ефективності технологій мікробного синтезу є також визначення особливостей метаболізму ростового субстрату і виявлення можливих сайтів метаболічного лімітування і/або активаторів (інгібіторів) ключових ферментів метаболізму з подальшою модифікацією поживного середовища. Мета даної роботи – підвищення синтезу ПАР *A. calcoaceticus* К-4 на основі дослідження особливостей C_2-метаболізму.

Показано, що окиснення етанолу й ацетальдегіду у штаму К-4 здійснюється піролохінолінхінон і 4-нітрозо-N,N-діметиланілін(НДМА)-залежними дегідрогеназами. Активність НДМА-залежних ферментів була максимальною (100–300 нмоль·хв$^{-1}$·мг$^{-1}$ білку) у ранній експоненційній фазі росту *A. calcoaceticus* К-4. Наявність НДМА-залежних алкоголь- і ацетальдегіддегідрогеназ у грамнегативних бактерій встановлено вперше.

Ацетат залучається до метаболізму у штаму К-4 за участю як ацетаткінази, так і ацетил-КоА-синтетази; поповнення пулу C_4-дикарбонових кислот здійснюється у гліоксилатному циклі (активність ізоцитратліази 600 нмоль·хв$^{-1}$·мг$^{-1}$ білку) і фосфоенолпіруват-карбоксилазній реакції (1600 нмоль·хв$^{-1}$·мг$^{-1}$ білку). У синтезі вуглеводів беруть участь обидва ключові ферменти глюконеогенезу: ФЕП-карбоксикіназа і ФЕП-синтетаза (1200 і 4400 нмоль·хв$^{-1}$·мг$^{-1}$ білку відповідно). Ензиматичні дослідження підтвердили здатність штаму К-4 до синтезу поверхнево-активних трегалозоміколатів (активність трегалозофосфатсинтази 150 –160 нмоль·хв$^{-1}$·мг$^{-1}$ білку).

Встановлено, що катіони амонію є активаторами ферментів біосинтезу поверхнево-активних аміно- і гліколіпідів *A. calcoaceticus* К-4 (ФЕП-синтетази, ФЕП-карбоксикінази і НАДФ$^+$-залежної глутаматдегідрогенази), а катіони калію і натрію – інгібіторами цих ферментів. Заміна нітрату калію у середовищі культивування штаму К-4 на еквімолярну за азотом концентрацію сечовини дала змогу підвищити показники синтезу ПАР у 4 рази. Зазначимо, що використання як джерел азоту для *A. calcoaceticus* К-4 амонійних солей (хлориду і нітрату амонію) супроводжувалося зниженням синтезу біомаси і ПАР, що зумовлено проблемами транспорту іонів амонію у клітини даного штаму. Наявність у *A. calcoaceticus* К-4 ФЕП-карбоксилазної активності – анаплеротичної реакції, характерної для росту на вуглеводних субстратах, - служить стоком надлишкового CO_2, утворюваного в уреазній реакції. Крім того, функціонування двох анаплеротичних шляхів (ФЕП-карбоксилазної реакції і гліоксилатного циклу) забезпечує посилення глюконеогенезу і підвищення синтезу поверхнево-активних гліколіпідів.

Білоус С., Коломієць Ю.

УКОРІНЕННЯ РОСЛИН-РЕГЕНЕРАНТІВ ДУБА МАКСИМА ЗАЛІЗНЯКА IN VITRO

Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна
julyja@i.ua

Дуб Максима Залізняка – одне з найстаріших і наймогутніших дерев в Україні віком понад 1000 років, заввишки 30 метрів і з діаметром стовбура 9 метрів. На сьогоднішній день дуже гостро стоїть питання збереження, охорони та лікування багатовікового дуба, адже він перебуває на межі загибелі. Існуючі технології розмноження деревних порід не ефективні в даному випадку, оскільки вони не в змозі забезпечити 100% передачу генетичного матеріалу. Треба впроваджувати нові технології виробництва високоякісного посадкового матеріалу, серед яких чільне місце займає мікроклональне розмноження. Цей метод має ряд переваг над традиційними способами вегетативного розмноження. Він дає змогу розмножувати рослини, які важко або зовсім не розмножуються вегетативно, прискорювати хід селекційних процесів, отримання оздоровленого садивного матеріалу. Мікроклональне розмноження листяних порід включає такі етапи: введення в культуру, індукція морфогенезу рослин, укорінення, пересадка регенерантів у субстрат.

Метою нашої роботи було укорінення рослин-регенерантів багатовікового дерева - Дуба Максима Залізняка - *in vitro*.

Як об’єкт використовували верхівкові бруньки пагонів останнього року приросту, взяті з Дуба Максима Залізняка. Стерилізуючими агентами слугували комерційний препарат „Білизна” (концентрацією 1:1), нітрат срібла (0,8% розчин $AgNO_3$) і 16,5%-ний перекис водню.

На етапі введення в культуру *in vitro* та регенерації використовували живильні середовища Мурасіге-Скуга (МС), Сміта і МакКоуна та Халупи з додаванням вітамінів і фітогормонів

різної концентрації. Експлантати вирощували в культуральній кімнаті при освітленні люмінісцентними лампами (4000 лк) на 16-годинному фотоперіоді при температурі 26°С.

Для укорінення рослини-регенеранти висаджували на живильне середовище Мурасіге-Скуга з половинним вмістом мінеральних сполук і додаванням ІМК і НОК у концентрації 0,1 – 0,5 мг/л.

З літературних джерел відомо, що найкращим періодом для введення експлантатів у культуру *in vitro* є фаза активного росту рослин. У цей час природні цитокініни переходять в активну форму, що сприяє нормальному розвиткові висаджених бруньок. У дуба звичайного активний ріст розпочинається у квітні-травні, тому експлантати для введення в культуру відбирали в цей період.

На початковому етапі культивування асептичних верхівкових бруньок та на етапі власне мікроклонального розмноження до середовища додавали 1,0–2,0 мг/л 6-БАП. Найактивніше пагоноутворення спостерігали на середовищі МС та Халупи з 1,0 мг/л 6-БАП. Встановлено, що низькі концентрації 6-БАП стимулювали швидкий ріст пагонів, які через місяць сягали 3–5 см. На середовищі Халупи з 2,0 мг/л 6-БАП експлантати утворювали невелику кількість коротких пагонів, які погано росли.

Після накопичення достатньої кількості вегетативного матеріалу наступним етапом було укорінення рослин-регенерантів Дуба Максима Залізняка. Для укорінення відбирали пагони з розвинутими листками, одного розміру і висаджували на живильне середовище Мурасіге-Скуга. Найкращі результати по вкоріненню відмічали на середовищі, яке містить 0,3 мг/л ІМК і 0,1 мг/л НОК. Частота укорінення рослин-регнерантів становила від 90 до 96%. Процес укорінення тривав 1 – 1,5 місяця.

Отже, в результаті проведених досліджень підібрані оптимальні концентрації регуляторів росту для пагоноутворення і укорінення рослин Дуба Максима Залізняка

Бойко С., Тросюк Т.

ПОРІВНЯННЯ ЦЕЛЮЛОЗОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ДИКАРІОТИЧНОЇ ТА МОНОСПОРОВИХ КУЛЬТУР ГРИБА *SCHIZOPHYLLUM COMMUNE* (FR.) FR

Донецький національний університет
вул. Щорса 46, м. Донецьк, 83050, Україна

Велика роль дереворуйнівних грибів у розкладанні лігноцелюлозного матеріалу у наш час не викликає сумніву. Необхідність використання деревини як субстрату дала грибам змогу придбати складний і різноманітний комплекс ферментів для її деструкції. Однак склад і активність окремих компонентів целюлозного комплексу специфічні для видів і штамів, а також визначаються умовами культивування (Даниляк Н.И., Семичаєвський В.Д., Дудченко Л.Г., Трутнєва И.А., 1989р.). Ферментативна конверсія рослинної сировини, продукти трансформації якої можуть бути широко застосовані для отримання продуктів харчування, білково -вітамінних препаратів, спиртів, низки біологічно-активних речовин, є цікавим і ще не до кінця вивченим питанням (Бабицкая В.Г., Трухоновец В.В., Смирнов Д.А., Щерба В.В., 2008р.). У зв'язку з цим у наш час проводяться активні дослідження потенційних продуцентів целюлозолітичних ферментів, а також праці по вдосконаленню вже існуючих штамів. Саме тому вивчення даного питання є актуальним, бо дасть змогу знайти активних продуцентів для подальшого використання в біотехнології (Фенгел Д., Вегенер Г., 1988р.)

Метою наших досліджень було порівняння показників активності C_1 та C_x – ферментного комплексу целюлаз дикаріотичної та моноспорових культур базидіального гриба *Schizophyllum commune* (Fr.) Fr.

Об'єктами досліджень були культури гриба *S. commune* (Fr.) Fr – дикаріотична Sc-16 і моноспорові Sc-16-1, Sc-16-2, Sc-16-3, Sc-16-4, Sc-16-5, Sc-16-6, Sc-16-7, Sc-16-8 і Sc-16-9. Культивування проводили на живильному середовищі Чапека з додаванням глюкози у кількості 1 г/л. Як джерело целюлози використовували тирсу деревини роду *Hyppocastanum* Mill. Визначення активності целюлозолітичних ферментів у культуральному фільтраті прово-

дили за температурою 35°С (термостат ТС-80М-2). Як субстрат для визначення активності C_1 -ферментного комплексу целюлаз використовувалась хроматографічна бумага, C_x – ферментного комплексу – Na-КМЦ. Активність целюлаз визначали за кількістю утворених протягом 24 годин редукуючих сахарів у реакційній суміші в результаті гідролізу хроматографічного паперу або Na-КМЦ. Кількість редукуючих сахарів визначали за методом Шомодьї-Нельсона (Дудка И. А., Вассер С. П., Елланська И. А., 1982р).

У результаті проведених досліджень отримані такі дані.

Загальна целюлозолітична активність C_1-ферментного комплексу для дикаріона є низькою – 600 од/мл, порівняно з максимальними значеннями для деяких моноспорових культур (Sc-16-7, Sc-16-6, Sc-16-3), показники яких вірогідно не відрізнялися між собою і становили від 1429,33од/мл до 1925 од/мл. Значення C_x-активності дикаріотичної культури вірогідно не відрізнялося від показників моноспорових культур і становило 766,67 од/мл.

Про питому активність можна сказати, що активність C_1-ферментного комплексу дикаріотичної культури Sc-16 перебувала на низькому рівні та дорівнювала – 710 од/мг білку, тоді як максимум для моноспорових культур Sc-16-7, Sc-16-6, Sc-16-3 становив від 1783,06 до 2776,97 од/мг. C_x-активність дикаріона вірогідно не відрізнялась від мінімальних значень для моноспорових культур і становила 914 од/мг.

Таким чином, можна зробити висновок, що активність C_1-ферментного комплексу дикаріона була значно менша за показники деяких моноспорових культур, тоді як значення C_x-активності дикаріотичної культури вірогідно від значень моноспорових не відрізнялося.

Бойко С., Яценко Т.

ДИНАМІКА ЗМІНИ ПЕКТОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ КУЛЬТУРИ А-1 ГРИБУ *AURICULARIA AURICULA* (HOOK.) UNDERW. ЗА РІЗНИХ ПОЧАТКОВИХ ПОКАЗНИКІВ КИСЛОТНОСТІ СЕРЕДОВИЩА

Донецький національний університет
вул. Щорса, 46, 83050, Україна

Вищі базидіоміцети становлять великий інтерес з теоретичної та практичної точки зору. Дослідження хімічного складу, ферментів різного спектру дії, біологічно активних сполук у плодових тілах, міцелії і культуральному фільтраті виявили перспективні штами грибів для використання продуктів їх життєдіяльності. Ферментативні препарати є потужним засобом переробки практично будь-якої біологічної сировини (Даниляк Н.И., Семичаєвський В.Д., Дудченко Л.Г., Трутнєва И.А.., 1989). Вивчення пектолітичної активності вищих базидіоміцетів становить інтерес для пошуку продуцентів пектиназ різного спектру дії (їх використовують в харчовій промисловості, в технології прядильних рослин, у сільському господарстві) (Семенова М.В., Синіцина О.А., Морозова В.В., А.В.Гусаков, 2006).

Метою нашого дослідження було вивчення динаміки пектолітичної активності (ПГА) культури А-1 *Auricularia auricula* (Hook.) Underw. за різних початкових показників pH.

Культивування грибів проводили на рідкому глюкозо-пептонному середовищі, де замість глюкози вносили пектин у концентрації 9 г/л. Гриби інкубували при температурі 28°С протягом 5, 10, 15, 20, 25 та 30 діб. Початкові значення кислотності поживного середовища становили 4, 5 і 6.

Визначення пектолітичної активності здійснювали йодометричним методом, який ґрунтується на гідролізі пектину культуральним фільтратом. За одиницю пектолітичної активності приймали кількість ферменту, яка вивільнює 1 ммоль галактуронової кислоти з полігалактуронової за 1 хвилину при температурі 25°С і pH 4.0.

Кількість білка вимірювали спектрофотометричним методом на спектрофотометрі СФ-26.

Експерименти проводили у трикратній повторності. Статистичну обробку проводили за схемами однофакторного дисперсійного аналізу.

Результати показали, що при pH 4 загальна пектолітична активність культури А-1 спочатку зростала, починаючи з 2,03 од/мл на 5-ту добу культивування, і досягла максимуму на 15-ту добу (5,73 од/мл). Потім різко зменшувалась, досягши мінімуму на 30-ту добу (0,05 од/мл). Загальна пектолітична активність при pH 5 поступово зростала від мінімального значення 0,03 од/мл на 5-ту добу і досягла максимуму 0,76 од/мл на 15-ту добу. Потім настав спад активності до 0,26 од/мл на 25-ту добу культивування. При pH 6 коливання пектолітичної активності менш різкі: від 0,2 од/мд на 5-ту добу культивування до максимального значення 0,33 од/мл на 10-ту добу.

При початковому рівні pH 4 у культури А-1 питома активність, як і загальна, поступово зростала (на 5-ту добу склала 1,25 од/мг) до 15-ї доби (максимум – 3,24 мл/мг), на 30-ту добу показник досяг мінімуму – 0,01 од/мг. При pH 5 питома пектолітична активність зростала до 15-ї доби, потім почала зменшуватися. Мінімум питомої активності за даного початкового pH становив 0,002 од/мг білку на 5-ту добу, а максимум – 0,023 од/мг білка на 15 добу. За pH 6 зміни питомої пектолітичної активності не є вірогідними (від 0,007 од/мг білку до 0,017 од/мг білку).

Таким чином, результати проведеного досліду дозволяють зробити висновок, що продукування пектолітичних ферментів культурою А-1 гриба *Auricularia auricula* (Hook.) Underw. відбувається інтенсивніше при значенні кислотності поживного середовища 4. Оптимальний термін культивування для даної культури становить 15 діб.

Бондарчук А.[1], Кисельов Д.[1,2]

МАРКУВАННЯ ТА КАРТУВАННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ГЕНІВ ЯБЛУНІ

[1]Національний університет біоресурсів та природокористування України
вул. Героїв Оборони 15, м. Київ, 03041, Україна
[2]Інститут садівництва НААН України
вул. Садова 6, м. Київ, 03027 , Україна
adept_08@bk.ru

Яблуня є основною плодовою культурою помірного кліматичного поясу північної півкулі. У світовому виробництві садівничої продукції вона займає одне з провідних місць. На сьогодні відомо тисячі сортів, які різняться між собою господарсько цінними ознаками.

При створенні нових сортів сільськогосподарських культур використовується природне або штучно створене генетичне різноманіття.

Для його детекції, оцінки й охорони, а також для добору рослин, які несуть господарсько -цінні ознаки, та відстеження цих ознак у процесі селекції застосовують фенотипові прояви генів – маркерні ознаки.

Для цієї мети вже давно використовуються морфологічні та біохімічні маркерні ознаки рослин, які вказують на особливості їх форми, забарвлення або біохімічного складу. Кількість таких ознак невелика. До того ж полігенна структура багатьох із них обмежує можливість картування господарсько цінних генів та контролю над переносом їх у нові форми рослин.

Одними з основних важливих функціональних генів яблуні є гаметофітна самонесумісність і гени ACC-синтетази й оксидази. Перший із названих генів використовується для створення самоплідних насаджень яблуні, що, в свою чергу, призводить до збільшення продуктивності насадження, незалежності від умов навколишнього середовища та пилкової продуктивності сортів-запилювачів.

Гаметофітна самонесумісність яблуні успадковується моногенно та обумовлюється тим, що основний глікопротеїн і РНК-аза блокують проростання пилкових трубок при самозапиленні. Були спроектовані S–Rnase праймери, які дозволяють ідентифікувати аналогічні S-RNase фрагменти. Це було використано для нанесення цього гена на генетичну карту виду *Malus domestica* Borch. на 17 групу зчеплення.

Молекулярні маркери також можна застосовувати для ідентифікації генів ACC–синтетази та ACC–оксидази в плодах яблуні. Відмінності, що спостерігаються в досліджува-

них алелях, пов'язані з кількістю етилену, який виробляє рослина. Відповідність між групами генів можна досліджувати з використанням гетерологічних праймерів.

Викладні вище відомості використовуються для створення обґрунтованої направленої селекційної роботи зі створення самоплідних сортів з подовженим терміном зберігання.

Бородай В., Данілкова Т., Хоменко Є.

ЗМІНИ У СКЛАДІ МІКРОФЛОРИ ГРУНТУ ПРИ ВИРОЩУВАННІ КАРТОПЛІ ПІД ВПЛИВОМ БІОПРЕПАРАТІВ

Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна
homenkorose@ukr.net

Збудники більшості хвороб картоплі передаються з посадковим матеріалом, більшість з них накопичується у ґрунті, особливо при тривалому вирощуванні картоплі на одному місці. Велика кількість фітопатогенних мікроорганізмів у прикореневій зоні створює підвищений ризик захворювання. Тому важливим є дослідження методів зниження інфекційного навантаження у ґрунті, з метою одержання якісного врожаю.

Певні агротехнічні заходи, в тому числі передпосадкова обробка насіннєвих бульб і подальше обприскування рослин у період вегетації біопрепаратами, сприяють зниженню щільності популяцій збудників захворювань в ґрунті та на бульбах нового урожаю і підвищують резистентність рослин до даних збудників. Дослідження способів обробки ґрунту і боротьби з бур'янами в Польщі під картоплею показало, що вони істотно не впливали суттєвого на чисельність мікроорганізмів у ґрунті. Вчені не спостерігали прямої залежності між урожаєм картоплі та чисельністю бактерій і актиноміцетів (Klikocka H.et al.,2003).

Використання в сучасних технологіях мікробіологічних препаратів різного характеру не тільки підвищує стійкість до фітопатогенів, продуктивність і якість продукції, але і сприяє оздоровленню агроценозів від шкідливої дії пестицидних препаратів. Збільшення ґрунтового пулу *Trichoderma harzianum* при використанні біологічного препарату на основі цього гриба-антагоніста корелювало з його ефективністю проти ґрунтового патогена *Fusarium sp.*, що викликає кореневу гниль. Препарат на основі хітозану більшою мірою стримував розвиток ранньої (*Alternaria sp.*, *Macrosporium sp.*) і пізньої (*Phytophthora sp.*) плямистостей листя і меншою мірою впливав на грунтову мікрофлору (Куликов С.Н., 2004).

В умовах лабораторії мікробіології кафедри екобіотехнології та біорізноманіття Національного університету біоресурсів і природокористування України було вивчено особливості зміни мікробних угруповань ґрунту при вирощуванні картоплі під впливом біопрепарату Планриз. У досліджуваних ґрунтах були представлені спороутворюючі та неспороутворюючі бактерії, актиноміцети, гриби родів *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. Порівняно з контрольним варіантом, серед виділених мікроорганізмів переважали бактерії та актиноміцети, високий вміст яких у ґрунті свідчить про активний процес аеробного розкладу органічних речовин. Згідно з нашими попередніми даними, кількість патогенних мікроорганізмів, таких як гриби родів *Alternaria* sp.та *Fusarium* sp., навпаки, знизилась. Ефективність біопрепаратів у пригніченні патогенів обумовлена змінами біологічного стану ґрунту (ризосфери), що виражається в активізації сапротрофної грунтової мікрофлори та її антагоністичного потенціалу до збудників гнилей. В цілому біопрепарати сприяють зміні складу мікроорганізмів у ризосфері картоплі (загальна кількість мікроорганізмів збільшилась у середньому з $430{,}3\cdot10^4$ КУО/г до $489{,}1\cdot10^4$ КУО/г). При цьому зменшується кількість патогенів (*Fusarium sp.* з $3{,}6\cdot10^4$ КУО/г до $1{,}42\cdot10^4$ КУО/г, *Alternaria* sp. з $5{,}32\cdot10^4$ КУО/г до $2{,}27\cdot10^4$ КУО/г), також збільшується чисельність сапротрофів і антагоністів.

Аналіз ґрунтових мікоценозів показав, що щільність популяцій потенційних антагоністів грибних патогенів картоплі при органічній системі землеробства (з використанням біопрепа-

ратів тощо) значно вища, ніж при інтегрованій системі (з використанням хімічних препаратів). Ступінь розвитку ризоктоніозу та звичайної парші при органічному землеробстві був значно менший, ніж при інтегрованій, що було пов'язано зі збільшенням кількості популяцій грибів *Trichoderma* spp. та *Gliocladium* spp. у ґрунті (Lenc L., 2006).

Одним з основних критеріїв дослідження грунту є аналіз динаміки біологічних процесів у ньому. Застосування мікробіологічних препаратів значною мірою активізує мікробіологічну активність ґрунту та значно знижує інфекційне навантаження.

Бунча В., Кальченко А.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ ЛІПІДІВ У БІОМАСІ *CHLORELLA VULGARIS* ЗА УМОВ НЕСТАЧІ НІТРОГЕНУ У СЕРЕДОВИЩІ

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»
пр-т Перемоги,37, м. Київ, 03056, Україна
s2dent@ukr.net

У наш час все гостріше постає проблема використання мінерального палива – його спалювання погіршує стан навколишнього середовища за рахунок газоподібних шкідливих викидів, а також його запаси поступово вичерпуються. Тому актуальним є розробка нових альтернативних відновлюваних видів пального, одним з яких є біодизельне паливо.

Зазвичай для виробництва біодизельного пального використовують олію технічних сільськогосподарських культур, вирощування яких приводить до виснаження родючих земель. Альтернативою таким рослинам є мікроводорості, які вирощують у ставах або у фотобіореакторах. Перевагою водоростей є легкість їх культивування, висока швидкість росту, незалежність від природних умов (при вирощуванні у фотобіореакторі), можливість управляти якісним і кількісним складом ліпідів у процесі культивування, а також викристовувати газові викиди підприємств для одержання поживного середовища. Дослідження культивування мікроводоростей з метою одержання біодизельного пального робить роботу перспективною і актуальною. Одним з видів, який здатний у великих кількостях накопичувати ліпіди, є *Chlorella vulgaris*.

Метою даної роботи є дослідження впливу концентрації Нітрогену в поживному середовищі на швидкість приросту біомаси та продукування ліпідів *Chlorella vulgaris*.

Нітроген входить до складу багатьох життєво необхідних біохімічних сполук, таких як білки, нуклеїнові кислоти, фосфоліпіди. Нестача Нітрогену значно уповільнює приріст біомаси культури, водночас із цим спостерігається збільшення вмісту ліпідів і жирних кислот. При зниженні вмісту Нітрогену зменшується інтенсивність фотосинтезу і відбувається перенаправлення потоків Карбону, фіксованого у фотосинтезі, від синтезу протеїнів до переважаючих напрямків синтезу ліпідів або вуглеводів. На відміну від полярних ліпідів, що утворюються у клітинах з достатнім вмістом Нітрогену в поживному середовищі, при азотній недостачі домінантними стають триацилгліцерольні нейтральні форми ліпідів. Тобто, змінюючи фізико-хімічні умови культивування мікроводоростей можна синтезувати ліпідні фракції з заданими властивостями, що дасть змогу підвищити якість біодизельного пального.

У наших дослідах показано, що максимальний приріст біомаси відбувається за стандартних умов вмісту Нітрогену (середовище Громова №6). Нестача Нітрогену приводить до уповільнення приросту біомаси, при цьому розміри клітин стають меншими і їх питома густина також зменшується. Це може свідчити про зміну шляхів метаболізму в напрямку утворення більш низькомолекулярних фракцій. За результатами двовимірної тонкошарової та газорідинної хроматографії було доведено, що при нестачі Нітрогену відбувається відносне збільшення кількості ліпідів на 15-20%, при цьому збільшується кількість мінорних фракцій і нейтральних триацилгліцеролів. Виходячи з одержаних даних, з метою одержання біодизельного пального можна запропонувати дві стадії вирощування

мікроводоростей. На першій стадії у стандартному середовищі проводити накопичення біомаси *Chlorella vulgaris,* на другій стадії за нестачі Нітрогену в поживному середовищі – проводити процес накопичення ліпідів біомасою. Термін першої і другої стадії становить від 3 до 5 діб.

Одержання біодизельного пального з мікроводоростей проводять за стандартною методикою, яка застосовується для його одержання за використання олійних сільськогосподарських культур. Залишок біомаси, збагачений білками, вуглеводами, вітамінами та іншими поживними речовинами, можна використовувати як корм для тварин або як субстрат для одержання метану чи водню.

Бунча В., Кальченко А.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ СОЛОНОСТІ НА ПРИРІСТ БІОМАСИ ТА ВМІСТ ЛІПІДІВ У КЛІТИНАХ МІКРОВОДОРОСТЕЙ *CHLORELLA VULGARIS*

Національний Технічний Університет України «Київський політехнічний інститут»
пр-т Перемоги,37, м. Київ, 03056, Україна
buncha_vad@ukr.net

Одним з найбільш перспективних джерел отримання біодизельного палива на сьогоднішній день є мікроводорості. Завдяки низці переваг вони викликають значно більший науково-практичний інтерес порівняно з вищими рослинами. До таких переваг належать висока продуктивність, відсутність необхідності виділення земель зі сільськогосподарського фонду для їх культивування, відсутність залежності накопичення біомаси від пори року та погодних умов, а також можливість збагачення біомаси ліпідами при дії стресових факторів зовнішнього та поживного середовищ.

Одним із перспективних видів для отримання ліпідів, як попередників біодизеля є вид *Chlorella vulgaris*, що належить до класу зелених водоростей (*Chlorophycea*). Даний вид зустрічається досить часто, особливо у прісних водоймах. Підвищення солоності є стресовим фактором для цих мікроводоростей, який запускає адаптивні механізми метаболічних шляхів. Згідно зі Сельє, стрес – це сукупність усіх неспецифічних змін, що виникають у живому організмі під впливом будь-яких сильних впливів (стресорів), що вмикають механізми перебудови захисних сил організму. За Сельє крива відповідних реакцій на стресовий вплив включає три фази («тріада» Сельє): турботи, адаптації (резистентності) та виснаження.

Збільшення солоності культурального середовища призводить до зміщення осмотичного тиску в клітинах мікроорганізмів. Його регуляція відбувається за рахунок накопичення невеликих молекул сполук-осморегуляторів. До останніх належать багатоатомні спирти і, у багатьох випадках, жирні кислоти.

Мета роботи – дослідження впливу солоності на кількісний вміст ліпідів у *Chlorella vulgaris*.

Досліджено вплив збільшення концентрації NaCl на ріст біомаси та накопичення ліпідів у культурі зелених мікроводоростей *Chlorella vulgaris*. Порівняння проводили для стандартного середовища з вмістом NaCl = 0 г/л (середовище I) і середовищ із концентрацією солі на рівні 2,3 г/л, 9 г/л і 15 г/л. При цьому встановлено, що збільшений вміст NaCl (9 та 15 г/л) пригнічує приріст біомаси і не впливає на відносний вміст ліпідів. У той же час помірний рівень солоності (2,3 г/л) не впливає на приріст біомаси, але підвищує відносну кількість ліпідів. Значення частки ліпідів у біомасі мікроводоростей, вирощених на інших досліджуваних середовищах, є нижчим і значно не відрізняється від значення цього показника для мікроводоростей, культивованих на стандартному середовищі.

Таким чином, внесення NaCl у середовище культивування в концентрації 0,25%, дозволяє збільшити накопичення ліпідів культурою *Chlorella vulgaris*, що позитивно вплине на кількість одержаного з неї біодизельного пального.

Головей. О., Філімоненко М.

ОСОБЛИВОСТІ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ БАКТЕРІЇ *THIOBACILLUS FERROOXIDANS* У БІОВИЛУГОВУВАННІ

Дніпродзержинський державний технічний університет
вул. Дніпробудівська, м. Дніпродзержинськ, 251918, Україна,
lamber@bk.ru

Розробка нових ефективних методів переробки мінеральної сировини є одним із визначальних факторів науково-технічного прогресу. Ресурси Землі хоча й великі, але обмежені та невідновні. Спостерігається тенденція до зниження вмісту металів і ускладнення мінерального складу рудної сировини, яка переробляється, зросли вимоги до охорони навколишнього середовища. Все це призводить до подорожчання видобутку та виділення корисних компонентів. Постійно зростаюча потреба в металах призводить до необхідності використання бідних руд, родовищ, що залягають на більших глибинах відвалів гірничодобувних підприємств. Тільки вдосконалювання та докорінна зміна методів видобування металів і переробки мінеральної сировини, створення безвідходних і маловідходних технологій, що забезпечують комплексне використання мінеральних ресурсів, надасть змогу забезпечити необхідними металами промисловість і вирішить ряд екологічних проблем. Одним із підходів до вирішення цих завдань є застосування біогеотехнології [Г.І. Каравайко та ін., 1989].

Біогеотехнологічні методи, мікробіологічна адсорбція та бактеріальне вилуговування дозволяють отримати додаткову кількість важких металів за рахунок утилізації "хвостів" збагачувальних фабрик, шламів і відходів металургійних виробництв, а також переробки руд, виділення із морської води та стоків. Застосування біологічних методів інтенсифікує процеси видобування металів із мінеральної сировини, здешевлює їх та дозволяє автоматизувати процес. На підставі численних досліджень прийнято вважати бактеріальне вилуговування перспективним процесом для впровадження у гірничодобувну промисловість [Т. Г. Волова, 1999]. Завдяки процесові вибіркової екстракції хімічних елементів із багатокомпонентних сполук за допомогою мікроорганізмів, які розчиняють їх у водному середовищі, з'являється можливість виділяти з руд та відходів виробництва коштовні компоненти (мідь, уран, залізо, цинк, золото, срібло та інші метали) або шкідливі домішки (наприклад, миш'як у рудах чорних і кольорових металів).

Найбільш важливу групу бактерій, які беруть участь у вилуговуванні сульфідних мінералів, складають ацидофільні тіобацили, що належать до сімейства *Thiobacteriaceae*. Вони характеризуються хемосинтетичним метаболізмом і здатністю використовувати окислювання неорганічної сірки та її сполук для одержання енергії для росту. Органічні сполуки слугують для них джерелом вуглецю, а елементарна сірка і розчинні сполуки сірки – джерелом енергії. Найбільш значимою для процесу вилуговування мінералів вважається бактерія *Thiobacillus ferrooxidans* – аеробна, ацидофільна, автотрофна, паличкоподібна бактерія, що активна в інтервалі значень pH 1,5-5,0, енергію для росту одержує при окислюванні заліза (II), сульфідів, сірки і розчинних сполук сірки, має потребу в джерелах азоту, фосфору і невеликих кількостях кальцію, магнію та калію. Оптимальна температура для росту мезофільних штамів становить 30°C, оптимальне значення pH для росту – 2,0.

T. ferrooxidans може бути знайдена в багатьох природних середовищах, сульфідних мінералах, швидко адаптується до важких металів, може переносити залізо у концентрації 40 г/л, мідь – 70 г/л, цинк – 119 г/л і нікель – 70 г/л. За допомогою постійного культивування можна одержати штами, адаптовані до кобальту, урану, хрому і миш'яку, толерантні до ртуті і селену [Гуляєв В. М., Волошин М. Д., 2002].

Вивчення основних характеристик і умов розвитку *T. ferrooxidans* дало змогу побудувати технологічну схему біовилуговування важких металів з сульфідного концентрату. Подальші дослідження і технологічні розрахунки можуть бути використані для проектування

екологічно чистих способів добування металів, що є досить актуальним для міста Дніпродзержинськ із його чималими техногенними родовищами.

Голуб Н., Голуб О., Шаловило Ю.

ВПЛИВ ГЕНІВ *NACHRA-30D* ТА *CAM* НА ЗМІНУ ДИСТРОФІНОВОГО ФЕНОТИПУ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
yulya_shalovylo@mail.ru

М'язові дистрофії у людини спричинені порушеннями у функціонуванні дистрофін-глікопротеїнового комплексу (ДГК), основними компонентами якого є дистрофін і дистроглікан. Тому використання дрозофіли як модельного об'єктF дасть змогу краще зрозуміти функціонування комплексу на молекулярному рівні, оскільки в *Drosophila melanogaster* наявні гомологи усіх відомих компонентів ДГК людини, хоча з меншою кількістю ізоформ. Метою роботи було дослідити вплив генів *nAchRα-30D* і *Cam*, задіяних у функціонуванні м'язів S цитоскелету, на дистрофіновий фенотип.

Об'єктом досліджень були високоінбредні лабораторні лінії *Drosophila melanogaster*, отримані з університету Дж. Вашингтона (м. Сіетл, США): tg6 (*dsDys(tg6)tubGal4/TM6,Tb*) та NH_2-Dys (*NH2-DysActGal4/CyO).* Ці лінії були сконструйовані з використанням антисенс-РНК до N- та C- кінців мРНК дистрофіну. Також було використано лінії, що містили додаткові копії генів: nAchRα-30D (*nAchRα-30D/CyO*), Cam (*Cam*/CyO). Контролем служила лінія дикого типу *Oregon*. Виготовлення гістологічних препаратів м'язів тораксу для 12-денних мух проводили згідно з методикою Хейзенберга і Боля. Досліджували вени крила та гістологічні зрізи м'язів особин першого покоління з використанням світлового мікроскопа, парафінові зрізи м'язів фарбували гематоксилін-еозином. На основі побудови кривих виживання розрахували показники середньої тривалості життя (СТЖ) і максимальної тривалості життя (МТЖ). Для визначення індексу рухової активності проводили climing-тест.

Для аналізу модифікуючого впливу генів-модифікаторів на мутантний фенотип за геном дистрофіну було проведене схрещування ліній, що містили додаткові копії генів-модифікаторів, з мутантами за геном дистрофіну, з метою отримання гібридів, які в одному організмі містили досліджуваний ген-модифікатор і генетичну конструкцію для інактивації гена дистрофіну. Аналізували таких потомків, у першу чергу, за фенотипом жилкування вен крила, яке порушене у вихідних мутантних ліній. Спостерігали відновлення нормального жилкування вен крила у всіх системах схрещувань, однак з неповною пенетрантністю, яка для генів -модифікаторів становила 20---52%. Найбільш активним супресором виявився ген *nAchRα-30D.*

У гібридів F1 від проведених схрещувань дослідили й інші характеристики – структуру м'язів тораксу, локомоторну активність і тривалість життя. Гістологічні зрізи м'язів тораксу було виготовлено в особин F1 з відновленим фенотипом вен крила. Проаналізувавши препарати, спостерігали часткове відновлення структури м'язових волокон. Пенетрантність за даною ознакою становила 55–63%. Контролем були зразки м'язів дистрофінових мутантів з дефектною структурою, що не характерно для особин лінії дикого типу *Oregon* цього ж віку. За властивістю відновлювати структуру м'язів тораксу високу активність проявили як ген *Cam,* так і ген *nAchRα.*

На основі аналізу кривих виживання нащадків F1 показано, що надекспресія генів-модифікаторів призводить до зростання параметрів як СТЖ, так і МТЖ. Так, у гібридів від схрещувань *nAchRα–30D × tg6, nAchRα–30D × NH_2–Dys* спостерігали зростання параметрів середньої тривалості життя у 2-3 рази та на 56-23% у системі схрещування *NH_2–Dys × Cam.* Збільшення максимальної тривалості життя на 16-10% виявлено для імаго з генотипами *nAchRα-30D/+ tg6/+*, *NH_2-Dys/nAchRα*, *NH_2-Dys/Cam*, відповідно до показників тривалості життя контрольних ліній *tg6* і *NH_2-Dys*.

Щодо індексу рухової активності, то встановили, що показники локомоторної активності у гібридів F1 впродовж усього життя були достовірно вищими (у 3-7 разів) порівняно з дистрофіновими мутантами. При цьому найвищим індексом рухової активності характеризувались ті особини, які несли додаткові копії гена *nAchR*.

Голуб Н., Демиденко К.

ВИДІЛЕННЯ ВОДНЮ ПУРПУРНИМИ БАКТЕРІЯМИ РОДИНИ *RHODOSPIRILLACEAE*

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»
пр-т Перемоги,37, м. Київ, 03056, Україна
demkat@ukr.net

На сьогодні проблеми охорони довкілля з одночасним збільшенням попиту на паливо спонукають наукову спільноту до пошуку ефективних енергетичних технологій, які б забезпечували низький рівень забруднення та одночасно сприяли незалежності країни від зовнішніх енергетичних носіїв (економічному зростанню). Перспектива розв'язання цих проблем базується на водневій енергетиці.

Водень є екологічно безпечним і практично невичерпним відновлюваним енергоносієм, має високу енергоємність. Окрім того, не несе шкідливого навантаження на навколишнє середовище, оскільки єдиним продуктом його згорання є вода.

Відомі термохімічні, хімічні, електрохімічні методи одержання водню. Однак найбільш перспективним з огляду на енергетичні витрати, а також на проблеми охорони довкілля, є біологічний спосіб одержання водню, хоча ці дослідження ще не знайшли широкого використання в промисловості.

Метою роботи є огляд процесів одержання водню пурпурними бактеріями.

Пурпурні бактерії продукують водень в анаеробних умовах як без дії світла, так і за наявності світлової енергії за допомогою *hox*-гідрогенази та нітрогенази. Вони мають лише одну фотосистему. Донорами електронів для фотосинтезу можуть слугувати леткі жирні кислоти і їх похідні.

Пурпурні бактерії можуть виділяти невелику кількість водню в темряві при розкладі таких ендогенних запасних речовин, як полі-β-гідроксибутират і глікогеноподібних вуглеводів. Виділення в темряві водню відбувається за участі ферменту піруват-феродоксин-оксиредуктази. Субстратами при цьому слугують деякі цукри, гліцерин, гліцерофосфат, піруват і форміат.

Кількість водню, що утворюється пурпурними бактеріями, і швидкість його виділення залежить від активності окремих штамів, віку культури, природи окиснюваних субстратів, інтенсивності світла та інших фізико-хімічних факторів.

На основі досліджень встановлено, що при створенні оптимальних умов виділення водню пурпурними бактеріями досягає 150-400 мл•год$^{-1}$•г$^{-1}$ сухої біомаси [Hillmer, Gest, 1977a; Meyer et al., 1978a; Кондратьева, 1978a; Weaver et al., 1979, 1980]. Враховуючи високі швидкості процесу, ці бактерії є перспективними об'єктами для одержання водню. Проблемою для розвитку технологій є дуже вузький спектр органічних сполук, що використовується пурпурними бактеріями. Це завдання можна вирішувати, поєднуючи темнову зі світлозалежною стадією, оскільки побічними продуктами темнового виділення водню, в основному, є леткі жирні кислоти, які легко засвоюються пурпурними бактеріями у світловій стадії. У цьому випадку можна збільшити вихід водню до 11 молів на моль глюкози при використанні целюлозовмісних відходів, що розкладаються деякими целюлозними бактеріями в анаеробних умовах до речовин, що легко засвоюються пурпурними бактеріями. При цьому до 4 молів водню може утворюватися в реакторі для темнового процесу і до 8 молів у фотобіореакторі з пурпурними бактеріями за використання жирних кислот, отриманих у результаті процесу бродіння.

Гончар М.[2], Климишин Д.[2], Німець О.[1], Федоренко В.[1]

ГЕТЕРОЛОГІЧНА ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ lndYR, afsS, absB ТА relA У ШТАМАХ АКТИНОМІЦЕТІВ, ПРОДУЦЕНТАХ АНТРАЦИКЛІНОВИХ АНТИБІОТИКІВ

[1]Львівський національний університет імені Івана Франка кафедра генетики та біотехнології, вул. Грушевського 4, Львів 79005, Україна
[2]Інститут біології тварин УААН, вул. Стуса 38, Львів 79034, Україна
oksana_nimets@ukr.net

Штами стрептоміцетів *S. nogalater* Lv66, *S.echinatus* DSM40730 та *S. peucetius* subsp. *caesius* ATCC27952 є продуцентами антрациклінових антибіотиків ногаламіцину, аранціаміцину та доксорубіцину відповідно. Ці антибіотики, а також їхні похідні, є важливими протипухлинними препаратами, що застосовуються у сучасній хіміотерапії ракових захворювань. Значною перешкодою для широкого застосування цих препаратів у клініці є їхня висока вартість, зумовлена низьким рівнем біосинтезу антибіотиків вихідними штамами. Дослідження регуляторних механізмів біосинтезу цих сполук дасть можливість створити штами їхніх промислових продуцентів.

Ця робота присвячена вивченню впливу плейотропних регуляторних генів – *lndYR, afsS, absB* та *relA* на біосинтез антрациклінових антибіотиків.

Шляхом міжродової кон'югації з *E. coli* ET12567 (pUB307) ми перенесли плазміди, які містять ці гени, pKC1218E*lnd*Y2-2, pKC1218E*afsS,* pKC1139*absB* та pR7*relA*, в клітини штамів *S. nogalater* Lv66, *S. echinatus* DSM40730 та *S. peucetius* subsp. *caesius*. Частота перенесення плазмід у середньому становила $(3{,}2\pm0{,}3)\times10^{-6}$.

Встановлено, що експресія регуляторних генів у відповідних штамах стрептоміцетів не впливає на їхню резистентність до антибіотиків різного механізму дії.

Досліджено вплив гетерологічної експресії використаних у роботі регуляторних генів на синтез антибіотиків транскон'югантами. Отримані дані порівняли із продукцією антибіотиків вихідними штамами. Методом ТШХ й антибіотичної активності екстрактів метаболітів одержаних штамів доведено, що експресія гена *lndYR,* у складі плазміди pKC1218E*lnd*Y2-2, призводить до зниження рівня синтезу антрациклінових антибіотиків ногаламіцину, доксорубіцину й аранціаміцину. Експресія гена *absB* у клітинах штаму *S. nogalater* Lv66 не впливає на рівень синтезу ногаламіцину, що може бути пов'язаним із відсутністю мішені зв'язування продукта цого гена в клітинах *S. nogalater*. Також показано, що експресія гена *afsS* зумовлює незначне зниження, а гена *relA* – підвищення рівня синтезу ногаламіцину, що свідчить про важливу роль цих регуляторів у біосинтезі антибіотика штамом *S. nogalater*.

Виявлено, що у штамі *S. peucetius* YR експресія плазміди pKC1218E*lnd*Y2-2 зумовлює зміну його споруляції. Такі зміни спостерігалися при вирощуванні штаму *S. peucetius* YR на вівсяному середовищі та на середовищі Беннета. Проте експресія гена *lndYR* не впливала на морфологічні характеристики штамів *S. nogalater* та *S. echinatus*.

Горбатюк О., Громико О., Федоренко В.

ПІДБІР ОПТИМАЛЬНИХ УМОВ ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ТА СИНТЕЗУ ТЕЙКОПЛАНІНУ ШТАМУ *ACTINOPLANES TEICHOMYCETICUS* Lv95

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського 4, Львів 79005, Україна
gorbatyk2012@gmail.com

Actinoplanes teichomyceticus – грампозитивні актинобактерії, які мають добре розвинений повітряний і субстратний міцелій, формують рухомі спори, що утворюються в спорангіях. Штам A. teichomyceticus Lv95 – продуцент глікопептидного антибіотика тейкопланіну, що використовується у медицині для боротьби з важкими інфекціями, викликаними грампозитивними бактеріями, наприклад, Staphylococcus aureus.

Важливим етапом у роботі з мікроорганізмами є підбір оптимальних умов культивування, зокрема склад поживного середовища, pH, температури вирощування та ін., які забезпечуватимуть хороший ріст та високу антибіотичну активність культури.

Першим кроком роботи було підібрати середовища для перевірки антибіотичної активності штаму *A. teichomyceticus* Lv95. Для цього ми використали середовища Чапека, Беннета і гліцериново-пептонне, які найчастіше використовуються для вирощування актиноміцетів, а також середовища, запропоновані Song зі співавт. (г/л): AI (глюкоза 10 , Malt extract 20, Pharmamedia 10, дріжджовий екстракт 5, агар 17, вода дистильована) та AI з додаванням проліну (0,5 г/л), яке назвали AI+pro. Також ми модифікували AI, у якому дріжджовий екстракт замінили сухими дріжджами, та назвали його AII. Антибіотичну активність досліджуваного штаму на цих середовищах ми перевіряли методом блоків на 5, 8, 10, 12, 14 доби росту. Як тест-культури нам слугували такі бактерії: *Bacillus subtilis* ATCC 31324, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Sarcina lutea* ATCC 4698, *Staphylococcus albus* ATCC 25923.

На п'яту добу штам *A. teichomyceticus* Lv95 виявляв антибіотичну активність лише проти *S. lutea* ATCC 4698 на середовищі Беннета, AII та AI+pro. Уже на восьму добу на середовищах AI, AII, AI+pro та Беннета ми спостерігали пригнічення росту всіх тест-культур. На середовищі Чапека штам виявляв активність лише проти *S. lutea* ATCC 4698, а на гліцериново-пептонному проти *S. lutea* ATCC 4698 та *B. cereus* ATCC 1457. На дванадцяту добу на всіх середовищах ми спостерігали активність проти використаних тест-культур. Штам, вирощений на середовищах AI, AII, AI+pro, утворював більші зони пригнічення росту тест-культур і продовжував нагромаджувати антибіотик і на чотирнадцяту добу росту, на що вказувало збільшення зон пригнічення росту тест-культур. На середовищах Чапека, гліцериново-пептонному та Беннета на цю добу збільшення зон пригнічення тест-культур ми не виявили. Ріст культури на більшості використаних середовищ був добрий, лише на гліцериново-пептонному середовищі штам не утворював повітряного міцелію. Отримані дані вказують на те, що для росту і синтезу найкращими середовищами є AI, AII, AI+pro та Беннета. Однак склад перших трьох середовищ є значно дорожчий, ніж склад середовища Беннета. Тому в наступних експериментах для вирощування *A. teichomyceticus* Lv95 ми використовували середовище Беннета. На цьому середовищі досліджуваний штам приблизно однаково пригнічував усі використані тест-культури. Для подальших експериментів з вивчення антибіотичної активності ми використали *B. subtilis* ATCC 31324.

Грубський Я., Лопатнюк М., Федоренко В.

ВПЛИВ МУТАЦІЙ СТІЙКОСТІ ДО АНТИБІОТИКІВ РИФАМПІЦИНУ ТА СТРЕПТОМІЦИНУ НА БІОСИНТЕЗ СІОМІЦИНУ ШТАМОМ *STREPTOMYCES SIOYAENSIS* Lv81

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського 4, Львів 79005, Україна
lopatnjatko@mail.ru

Штам *Streptomyces sioyaensis* Lv81 – продуцент тіопептидного антибіотика сіоміцину. Сіоміцин має протибактерійні та протипухлинні властивості і є перспективним у терапії ракових захворювань. Підвищений рівень біосинтезу антибіотиків може залежати, не тільки від генів, що відповідають за синтез, а й також від генів, що забезпечують стійкість до власного та інших антибіотиків. Особливий інтерес викликають мутації стійкості до антибіотиків, які впливають на процеси транскрипції, трансляції, транспорту метаболітів і морфогенез актиноміцетів (аміноглікозидів, рифампіцину, макролідів). Тому отримання і вивчення мутантів штаму *S. sioyaensis,* в яких є зміни антибіотичної активності є важливим кроком у вивченні механізмів біосинтезу сіоміцину та селекції його продуцентів.

У ході роботи було отримано рифампіцин-резистентний (Rif^R) мутант Rif49S, який добре спорулював та мав підвищений рівень синтезу сіоміцину. Шляхом титрування ми вивчили вплив різних концентрацій стрептоміцину на виживання штаму Rif49S. Титрування спор на зростаючих концентраціях стрептоміцину виявило, що при збільшенні кількості стрептоміцину в середовищі від 2 до 5 мкг/мл відсоток виживання спор зменшувався від $1,6\times10^{-5}$до $2,3\times10^{-6}$ %, відповідно.

Спонтанні стрептоміцин-резистентні мутанти (Str^R) штаму Rif49S відбирали на середовищі, яке містило 2 мкг/мл стрептоміцину. Частота виникнення Str^R-мутантів становила 10^{-7}. Було отримано 366 спонтанних Str^R-мутантів. Отримані Str^R-мутанти, використовуючи метод відбитків, ми поділили на 3 групи за рівнем стійкості до стрептоміцину. Перевіривши отримані клони на рівень синтезу сіоміцину, виявили, що Str^R-мутанти Rif49S характеризувалися зростанням середнього значення індексу продуктивності (ІП) до 9,4, порівняно з 5,4 у *S. sioyaensis* та 6,4 у Rif49S. Також значно зріс коефіцієнт варіації, до 37,7%, в порівнянні з 23,1% у *S. sioyaensis* та 29,7% у штаму Rif49S. Серед спонтанних Str^R-мутантів, стійких до концентрації стрептоміцину 1000 мкг/мл, було виділено мутант 49, який мав вищу антибіотичну активність, ніж вихідний штам *S. sioyaensis*.

Для отримання N-метил-N'-нітро-N-нітрозогуанідин-індукованих (НГ-індукованих) Str^R-мутантів штаму Rif49S було використано час обробки 20 хв, при цьому частота виникнення клонів мутанта Rif49S, стійких до стрептоміцину, зростала на два порядки. Отримано 402 НГ -індукованих Str^R-мутантів Rif49S, які поділено на 3 групи за рівнем стійкості до стрептоміцину. Мутант 267, стійкий до концентрації стрептоміцину 1000 мкг/мл, характеризувався збільшенням антибіотичної активності.

Перевіривши та порівнявши антибіотичну активність одержаних спонтанних та НГ-індукованих Str^R-мутантів Rif49S з такими ж показниками вихідного штаму *S. sioyaensis* та штаму Rif49S, виявили, що спонтанні Rif^RStr^R-мутанти характеризуються підвищенням середнього значення ІП на 74%, а НГ-індуковані - на 63%. Кількість "плюс-варіантів" зростала в обох випадках, порівняно з *S. sioyaensis* і штамом Rif49S, а кількість "мінус-варіантів" залишалася на рівні з *S. sioyaensis*.

Таким чином, використання НГ збільшує кількість мутантів з підвищеним середнім значенням ІП. Спонтанний мутагенез дозволяє розширити межі варіації ознаки і відбирати "плюс-варіанти". Дані, отримані у роботі, мають важливе значення для подальшої генетико-селекційної роботи зі штамом *S. sioyaensis* Lv81 та у виділенні надпродуцентів сіоміцину.

Груник Н., Могиляк І., Сенів О., Черник Я.

ЧУТЛИВІСТЬ ДО УМОВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ Й ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОХОДЖЕННЯ РЕАКЦІЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНИХ МУТАНТІВ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ГРУПИ *SWS*

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
hrunykn@gmail.com

Дослідження останніх років показують, що оксидативний стрес (ОС) часто супроводжує процеси нейродегенеративних розладів у людини. Найбільш негативними наслідками оксидативного стресу є процес перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), який індукується активними формами кисню та супроводжується ураженням мембранних структур клітини і загрожує порушенням цілісності клітинної мембрани. *Drosophila melanogaster* є зручною тест-системою для вивчення даних процесів.

Матеріалом дослідження слугували 4 лінії нейродегенеративних мутантів *Drosophila melanogaster* за Х хромосомою, отримані шляхом індукованого етилметансульфанатом мутагенезу. Попередньо нами ці мутації були картовані в гені *sws* (76-15, 72-7, 61-7). Всі

використані нами в роботі мутантні лінії характеризувалися швидким розвитком дегенерації тканин мозку та вираженим скороченням показників тривалості життя. Контролем служила лінія дикого типу *Oregon*. Як позитивний контроль використана лінія *sniffer* з підвищеною чутливістю до умов оксидативного стресу, отримана шляхом Р-інсерційного мутагенезу. Культуру утримували на стандартному середовищі при оптимальній температурі 23-25^{0}С. Дослідження інтенсивності реакції перекисного окиснення ліпідів (ТБК-позитивних продуктів і дієнових кон'югатів) в особин у процесі старіння та у молодих особин, які піддавались впливу оксидативного стресу, індукованого 5% розчином пероксиду водню, 10мМ та 20мМ розчинами метилвіологену. Також досліджений вплив даних сполук на дегенеративні зміни структури мозку.

Результати досліджень показали, що серед молодих особин 3-денного віку найвищим вмістом ТБК-позитивних продуктів характеризувалася лінія *sws;* з віком у всіх нейродегенеративних мутантів цей показник зростав від 46% у лінії *76-15* до 2 разів у ліній *72-7* та *sniffer,* тоді як у лінії дикого типу *Oregon* це збільшення становило 26%; рівень утворення дієнових кон'югатів у нейродегенеративних мутантів 3-денного віку був у 1,5 – 10 разів вищим порівняно з відповідним показником у лінії дикого типу *Oregon,* а у 21-денних особин він у 3 – 7 разів зростав у всіх проаналізованих ліній; за умов ОС відбувалося різке зростання вмісту ТБК-позитивних продуктів та дієнових кон'югатів. Найвищі значення продуктів ПОЛ були у ліній *sniffer* та *sws*; досліджено вплив пероксиду водню та метилвіологену на розвиток дегенерації тканини мозку у мутантних ліній та лінії дикого типу *Oregon*. За створених умов ОС прогресування нейродегенеративних змін спостерігалось у всіх мутантних ліній; у лінії дикого типу *Oregon* – лише за дії 20мМ розчину метилвіологену.

Дзюба Т., Кисельов Д., Кутузова К.

ПОРІВНЯННЯ ГЕНЕТИЧНИХ КАРТ РОДІВ ARABIDOPSIS ТА PRUNUS

Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв оборони 15, Київ, 03041, Україна
Kutuzova91@rambler.ru

Arabidopsis thaliana (L.) Heynh. – найбільш популярний модельний об'єкт сучасної генетики рослин, завдяки короткому періоду вегетації, високій насіннєвій продуктивності, який в умовах лабораторії можна вирощувати круглий рік. Геном Arabidopsis thaliana був повністю секвенований ще в 2000 році (2n=10). Встановлені нуклеотидні послідовності всіх 25489 генів арабідопсису. Арабідопсис є зручним об'єктом для досліджень у галузі кількісної генетики, молекулярної біології та біохімії рослин.

Завдяки сучасним методам молекулярної генетики та генетичної інженерії арабідопсис використовують як донор генів при створенні цінного вихідного матеріалу для селекції рапсу, рису та інших об'єктів. Зокрема, лінії арабідопсису *ap1* (безпелюсткова квітка) та *bp* (вкорочені квітконіжки та плодоніжки) є цінними для поліпшення морфології рослин род. *Brassicaceae*.

У свою чергу, представники роду Prunus стали модельними об'єктами при вивченні генетики плодових культур.

Вивчення та детекція синтенічних ділянок у геномах видів, що належать до різних родин, у першу чергу ставить перед собою завдання дослідження еволюції цих видів та розрахунок часу їх дивергенції від загальної предкової форми. Іншим аспектом є пошук гомологічних генів у геномах з метою вивчення їх експресії та розуміння механізмів їх впливу на фенотип.

У європейському проекті по картуванню геномів представників роду *Prunus* була сконструйована генетична карта, яка містить 562 молекулярних маркери. У дослідженнях із вивчення синтезії геномів *Arabidopsis* та *Prunus* було використано 177 послідовності ДНК, які відповідають 227 нанесеним локалізаціям на генетичній карті «TXE» *Prunus* і високогомологічним послідовностям геному *Arabidopsis*, що дало змогу порівняти генетичні карти Prunus із

фрагментарною послідовністю геному Arabidopsis. 227 локалізацій (що відповідають щільності генетичної карти - 2.6 cM на маркер) Prunus гомологічні 703 локалізаціям у геномі Arabidopsis.

Ці дані є достовірними за наявності мінімум трьох гомологічних маркерів, локалізованих в межах 1.2 м.п.н. або менше (1 % геному Arabidopsis), та в межах 6 cM (1% карти *Prunus*). За цими суворими критеріями було знайдено 37 синтенічних областей, які охоплюють 23% карти *Prunus* і 17% геному *Arabidopsis*. Найбільш довга синтенічна область покриває 25 cM, що включає 13 гомологічних маркерів у групі зчеплення G2 *Prunus* та відповідає 5.4 м.п.н. (16 маркерів) на хромосомі 5 Arabidopsis.

Дане порівняння дало змогу виявити дупліковані області в геномі *Prunus* між і всередені хромосом, а також подібні ділянки в геномі Arabidopsis.

Євтушевська Л., Коломієць Ю.

ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ЛІПІДІВ КАЛЮСНИХ ТКАНИН РІЗНИХ СОРТІВ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ

Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна
julyja@i.ua

Пшениця – основа зернова культура, що вирощується на території України. У структурі виробництва пшениці більше половини припадає на озиму пшеницю, що становить 43% посівів усіх зернових культур. Основою підвищення врожайності даної культури є створення високопродуктивних сортів. Одним з найбільш ефективних шляхів для досягнення цієї мети є застосування біотехнологічних методів, а саме культи ізольованих клітин *in vitro*. Адаптивні властивості рослин та їхня продуктивність безпосередньо пов'язані з функціонуванням клітинних мембран. Це, в свою чергу, обумовлюється складом ліпідів і жирних кислот.

Метою нашої роботи було отримання калюсу та визначення жирнокислотного складу ліпідів калюсних тканин трьох сортів озимої пшениці для подальших досліджень з підвищення адаптивних властивостей і продуктивності пшениці.

Об'єктами досліджень були три сорти озимої м'якої пшениці: Калинова, Волошкова, Колос Миронівщини, взяті з Миронівського інституту пшениці імені В.М. Ремесла НААН України. Як експлантати використовували зрілі зародки злакової культури. З метою розробки ефективної методики в культурі *in vitro* було проведено декілька експериментів з підбору оптимального складу середовища. Для одержання первинного калюсу використовували модифіковані середовища Мурасіге-Скуга (МС), які відрізнялися вмістом регуляторів росту – з групи ауксинів – 2,4-дихлорфеноксіоцтовою кислотою (2,4-Д) та індолілоцтовою кислотою (ІОК). Експлантати висаджували на середовища: МС1 – безгормональне середовище, МС2 – 1 мг/л 6-бензиламінопурину (6-БАП) і 0,5 мг/л ІОК, МС3 – 1 мг/л 6-БАП і 2 мг/л 2,4-Д. Пробірки з висадженими експлантатами протягом 14 діб культивували в темряві при температурі 25°С.

Ліпіди з калюсних клітин екстрагували сумішшю хлороформ-метанол-вода (1:2:0,8). Жирнокислотний склад вивчали методом газорідинної хроматографії їхніх метилових ефірів.

У всіх використаних генотипів найкраще формування рихлого калюсу із експлантатів було на середовищі МС2, яке містило 0,5 мг/л ІОК, при цьому приріст калюсної маси в середньому становив для сортів Калинова – 1,12 ± 0,13 г, Волошкова – 1,21 ± 0,24 г, Колос Миронівщини – 1,75 ± 0,20 г. Менший приріст калюсної маси відмічався на середовищі МС3, яке містило 2 мг/л 2,4-Д. При цьому приріст калюсної маси для сортів становив: Калинова – 0,88 ± 0,20 г, Волошкова – 1,00 ± 0,24 г, Колос Миронівщини – 1,48 ± 0,20 г.

Ліпіди калюсних тканин пшениці характеризувалися наявністю жирних кислот з числом вуглецевих атомів від C_{15} до C_{24}. Серед них насичені (тетрадеканова, пентадеканова, гексадеканова, октадеканова, ейкозанова, докозанова, тетракозанова), мононенасичені (гексадеценова, цис-октадеценова, транс-октадеценова), диненасичені (9,12-октадекадієнова) жирні кислоти. У ліпідах калюсних клітин виявлені жирні кислоти переважно з парним числом вуглецевих

атомів. Ліпіди характеризуються високим вмістом ненасичених кислот. Вміст мононенасичених жирних кислот становив 21,9 – 22,3%, диненасиченої кислоти – 43,7 – 44,1% залежно від сорту. Серед мононенасичених кислот переважала цис-октадеценова кислота (18,6 – 18,9%). Сумарний вміст насичених кислот становив 33,6 – 34,4%. Основною кислотою серед насичених є гексадеканова кислота – 27,7 – 30,0%, вміст інших кислот не перевищував 1,9%.

Таким чином, у результаті досліджень підібрано склад середовища для одержання первинного калюсу та визначено жирнокислотний склад ліпідів калюсних тканин трьох сортів озимої пшениці.

Єрохін В., Карпенко О.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ БІОРЕАКТОРІВ РІЗНИХ МОДЕЛЕЙ ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ ПРОДУЦЕНТІВ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН

Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України
вул. Наукова, 3а, м. Львів, 79060, Україна
biotehlviv@ukr.net

Масштабування ферментаційних процесів від лабораторного до промислового виробництва є актуальною проблемою біотехнології. Важливим завданням при цьому є вибір оптимальної моделі біореактора. На даний час у промисловості використовується велика кількість різних видів ферментерів, які відрізняються за своєю конструкцією, способами аерації та перемішування. Кожен із них має свої переваги та недоліки. Основними критеріями вибору системи ферментера для глибинного культивування аеробних мікроорганізмів є забезпечення достатнього масообміну за киснем (дихання) та рідкою фазою (перемішування). Крім того, важливим критерієм є піноутворення, особливо для мікроорганізмів-продуцентів поверхнево -активних речовин (біоПАР).

Для досліджень було обрано штам *Pseudomonas* sp. PS-17, що є ефективним продуцентом біоПАР гліколіпідної природи. У попередніх експериментах було визначено оптимальні умови культивування даного штаму при вирощуванні на колбах.

Як перша система біореактора для вирощування даного штаму досліджувався барботажно-аерліфтний ферментер. Даний тип є найбільш простим у своїй конструкції. Результати показали значне зменшення виходу продукту та збільшення тривалості культивування порівняно з результатами, одержаними на лабораторних колбах. До того ж процес супроводжувався інтенсивним піноутворенням, що призводило до великої втрати продукту з піною.

При застосуванні біореактора з барботером і перемішуючим пристроєм, який є найбільш поширеним у промисловості, ефективність біосинтезу ПАР також була нижчою, ніж при культивуванні на колбах, та спостерігалися втрати продукту з піною. Для вирішення останньої проблеми застосування механічної системи піногасіння виявилося неефективним, а додавання хімічних піногасників у кількостях, достатніх для ефективного піногасіння, спричиняло інгібування росту і синтезу цільового продукту. Зміна форми і параметрів барботера та перемішуючого пристрою суттєво не вплинули на результати культивування.

Менш поширеним у промисловому використанні є ферментер із самовсмоктуючою мішалкою, у якому внаслідок конструктивних особливостей покращується масопередача за киснем у середовищі, а відсутність барботера зменшує піноутворення. Одержані на цій моделі біореактора результати культивування були співрозмірними з культивуванням даного штаму на колбах.

Наступною досліджувалася можливість використання біореактора з вихровою системою аерації, в якому створюється керований тривимірний вихровий потік рідини, що забезпечує інтенсивне перемішування та насичення середовища киснем повітря. Коефіцієнт масопередачі за киснем в такій системі у 2-3 рази більший, ніж при барботажній аерації. Встановлено суттєві переваги застосування ферментера даної системи для біосинтезу ПАР досліджува-

ним штамом: скорочення лаг-фази, висока питома швидкість росту і накопичення продукту, значне збільшення виходу продукту при зменшенні загальної тривалості культивування, а також вирішення проблеми піногасіння. Завдяки наявності вихрового потоку, піна з поверхні рідкої фази миттєво засмоктувалася всередину вихору і розподілялася по об'єму середовища, насичуючи його киснем. Параметри потоку та вміст кисню в середовищі можна регулювати зміною швидкості обертів перемішуючого пристрою.

Таким чином, одержані результати показали, що біоректор з вихровою системою аерації є найбільш ефективним для культивування продуцентів поверхнево-активних речовин.

Робота виконана за фінансової підтримки УНТЦ (проект 4973).

Жураховська Д.

ОТРИМАННЯ ВОДНЮ З ЦЕЛЮЛОЗНИХ ВІДХОДІВ ЗА ВИКОРИСТАННЯ СУМІШІ АНАЕРОБНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

Національній технічний університет України «Київський політехнічний інститут»
пр-т Перемоги,37, м. Київ, 03056, Україна
dashkina13@ukr.net

Одним із небажаних наслідків розвитку цивілізованого суспільства є утворення великої кількості органічних відходів. Спалювання відходів чи захоронення їх на звалищах є економічно невигідним і екологічно небезпечним. Натомість, біологічна переробка відходів деревообробної, сільськогосподарської та харчової промисловості є дешевим і екологічно чистим методом одержання водню. Він є енергоносієм, при спалюванні якого утворюється вода і виділяється енергія, що може використовуватися на потреби населення чи промисловості. Розробка такої біотехнології дасть змогу вирішити одночасно дві проблеми: енергетичну – одержання відновлювального енергоносія економічно вигідним способом, та екологічну - утилізація органічних відходів.

Мета роботи – отримання водню з целюлозних відходів за використання суміші анаеробних мікроорганізмів. Целюлоза є основною частиною будь-якого рослинного матеріалу і становить до 50% побутових відходів. Мікроорганізми здатні розкладати целюлозу як в аеробних, так і в анаеробних умовах, проте виділення водню відбувається лише у процесах бродіння, що здійснюються в анаеробних умовах. Існує 12 видів мікроорганізмів, що отримують енергію в процесі целюлозного бродіння за анаеробних умов. Кінцевими продуктами бродіння можуть бути етанол, оцтова, мурашина, пропіонова та молочна кислоти, а також молекулярний водень і CO_2. Продукти бродіння за застосування інших видів мікроорганізмів можуть також перетворюватися на водень. Тобто для підвищення виходу водню необхідно застосовувати консорціум мікроорганізмів, що належать до різних таксонометричних груп.

Джерелом мікроорганізмів слугувало листя, гілля, пісок і мул з проточних та стоячих водойм, взятих на різній глибині та під шаром піску. Процес ферментації проводився в анаеробних умовах без участі світла. При целюлозному бродінні конкурують два процеси: утворення водню і метаногенез. Для пригнічення утворення метану відходи, що містять целюлозу, піддавали попередній температурній обробці при 90^0C протягом 15-60 хвилин, або знижували pH середовища ферментації до 5.

При цьому спостерігалося стабільне виділення газу і розкладання целюлозних субстратів. Для поглинання CO_2 та H_2S газ пропускали через розчин лугу. Відповідно до умов проведення процесу та початкового консорціуму мікроорганізмів змінювались їх видовий склад і швидкість продукування водню. В усіх випадках домінували представники таких родів, як *Clostridium* і *Bacillus*. Максимальна продуктивність спостерігалась за температури 50^0C та при значеннях pH 7,5-8 і становила 1,2 мл газу за добу на 1 г целюлози.

Для якісного визначення складу одержаної газової суміші, що утворилась у процесі ферментації, використовували метод газової хроматографії. Найбільший вихід водню становив 91-93% при використанні мікроорганізмів, взятих з піску на глибині водойм під шаром мулу.

Отже, для конверсії відходів, що містять целюлозу, у водень необхідно використовувати суміші мікроорганізмів, взятих з глибини проточних водойм під шаром осаду більше 20 см, серед яких є як деструктори целюлози, так і мікроорганізми, що використовують продукти бродіння перших як субстрат.

Канарський Є.[1] Кисельов Д.[1,2]

QTL МАРКЕРИ ДЛЯ ОЦІНКИ СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ ЯБЛУНІ

[1]Національний університет біоресурсів та природокористування України
вул. Героїв Оборони 15, м. Київ, 03041, Україна
[2]Інститут садівництва НААН України
вул. Садова 6, м. Київ, 03027, Україна

До сьогодні відомо щонайменше 5 молекулярно-генетичних карт, які побудовані для геному яблуні. Більш ранні з них базуються на RAPD та RFLP маркерах, що, в свою чергу, обмежує їх використання та вони є важко відтворюваними.

У 2002 році була розроблена детальна молекулярно-генетична карта, яка базується на більш ніж 100 SSR маркерах. Її можна використовувати як допоміжну для будь-якого гібридного сіянця або клону яблуні. Подібні генетичні карти розроблені і для груші. Але нещодавно було продемонстровано, що генетичні SSR карти, розроблені для яблуні, можуть бути ефективно використані для європейської та азійської груші.

Ідентифікація QTL (локуси кількісних ознак) маркерів у плодових культур є дуже важкою процедурою, оскільки обидві батьківськи форми є гетерозиготними та аналіз сегрегації ознаки, що маркується, потребує великої вибірки для збільшення точності. Перший приклад такого маркера, нанесеного на генетичну карту яблуні, – ознака щільності плоду, другий – ідентифікований для оцінки структури його м'якуша.

Різні QTL маркери, пов'язані з різними мультигенними джерелами стійкості до парші (TN 10-8), були знайдені відносно різного інокулята (різних рас збудника). Такі мультигені джерела стійкості до захворювань є дуже актуальними для створення сортів, імунних до всіх відомих рас певного організму, найбільш шкодочинними в зоні районування.

Були ідентифіковані 3 QTL маркери, пов'язані з вмістом вітаміну С. Вони локалізовані в 6, 10 та 11 групах зчеплення. Внесок кожного з них становить до 31% від загального вмісту вітаміну в м'якуші плоду.

Кирпичова І.

АГРОБАКТЕРІАЛЬНА ТРАНСФОРМАЦІЯ АРАБІДОПСИСА ТАЛЯ

Луганський національний аграрний університет
м. Луганськ, 91008, Україна
kirinopsis@rambler.ru

За останнє десятиліття в провідних біотехнологічних центрах світу інтенсивно ведуться роботи зі зміни ядерного геному вищих рослин із застосуванням методів генетичної інженерії. При створенні трансгенних рослин найбільш важливим моментом є досягнення високого і стабільного рівня експресії перенесених цільових генів серед вихідних трансформантів, нащадків від самозапилення і в гібридів від їх схрещування. Дослідження стабільності експресії та успадковування чужорідної ДНК в геномі трансгенних рослин показали, що вони успадковуються за класичними законами Менделя (Budar F. et al, 1986). За використання різних методів трансформації рослин можливе множинне перенесення генів. При цьому частота вбудовування генів залежить від компетентності реципієнтних клітин (Радчук В.В. 2001). Тому вивчення експресії чужорідних генів у трансформантів і їх нащадків, у гібридів від різних видів схрещувань, створення нових модельних систем на трансгенних рослинах є актуальним (Маренкова Т. В., 2005). Метою нашої роботи було отримання рослин арабідопсиса, стійких до фосфінотрицину (діюча речовина гербіциду BASTA).

Для трансформації використовували плазміду pICBV19 та *Agrobacterium tumefaciens* (штам GV3101). Плазміда містила кодуючу послідовність гена стійкості до фосфінотрицину (гена *bar*), 35S промотор, промотор нопалінсинтази (NOSpro), термінатор нопалінсинтази (NOSter), термінатор октапінсинтази (OCSter), ген β-глюкуронідази (GUS). Трансформацію проводили за модифікованим методом Clough J. S. та Викторек-Смагур А. (Clough J. S., Bent F.A., 1998; Викторэк-Смагур А. та ін., 2009). Як рослинний матеріал використовували лінії арабідопсиса екотипу Landsberg (N1298) і Landsberg *erecta* (NW20), насіння яких отримано з Ноттінгемського центру зразків арабідопсиса (NASC, UK). Рослини вирощували за загальноприйнятою методикою, обробляли гербіцидом BASTA у концентрації 1,25 мл/л на стадії чотирьох розеткових листків, повторну обробку проводили через 10 днів. Ефективність трансформації розраховували як співвідношення кількості трансгенних рослин до загальної кількості рослин, отриманих при трансформації. Достовірність розщеплення визначали в першому поколінні трансформантів за допомогою критерію χ^2 .

У результаті експериментів отримано три стійкі до фосфінотрицину лінії екотипу Landsberg (частота трансформації 0,1%, ефективність 100%) і 1 лінія Landsberg *erecta* (частота трансформації 0,2%, ефективність 50%). В однієї лінії Landsberg розщеплення, що спостерігалося в першому самозапиленому поколінні за експресією введеного гена *bar,* становило 3:1, отже, в рослинах міститься одна копія перенесеного гена. У двох інших лініях гіпотеза про моногенне розщеплення не підтвердилася, що, вірогідно, вказує на наявність декількох копій гена *bar* в рослинах. У лінії Landsberg *erecta* розщеплення 3:1 підтверджує присутність однієї копії гена стійкості до фосфінотрицину. Життєздатність рослин трансформантів відповідає контролю. Отримані лінії можуть бути залучені в подальші дослідження.

Кисельов Д.

АНАЛІЗ МІЖСОРТОВОГО ДНК-ПОЛІМОРФІЗМУ ЯБЛУНІ

Інститут садівництва НААН України
вул. Садова 6, м. Київ, 03027 , Україна
kiselevda@ukr.net

Яблуня є основною плодовою культурою в помірному кліматичному поясі північної півкулі. У світовому виробництві плодової продукції вона займає четверте місце. На сьогодні відомі тисячі сортів, які відрізняються рядом важливих господарсько-цінних ознак. Провідне місце в селекційній роботі займає відбір гібридних форм із визначеними ознаками. Для цього перспективним методом може стати використання молекулярних маркерів (QTL та MAS) .

Ідентифікація сортового генофонду плодових і ягідних культур проводиться переважно за морфологічними та біохімічними показниками плодів. Однак морфологічні ознаки не завжди мають повну інформативність, через те, що на формування цих ознак істотно впливають умови навколишнього середовища. Крім того, відсутня чітка кореляція між морфологічними показниками та господарсько-цінними властивостями: продуктивність, стійкість проти хвороб і шкідників, якість врожаю тощо.

У сучасному садівництві для ідентифікації сортів яблуні та інших плодових культур дедалі більшого поширення набувають молекулярно-генетичні маркери, отримання яких базується на використанні полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

Важливою характеристикою популяції є внутрипопуляційна генетична мінливість (поліморфізм) за дискретними якісними та кількісними ознаками. З використанням ДНК-маркерів пов’язані практичні досягнення в ідентифікації та реєстрації сортів важливих сільськогосподарських культур і детекції основних господарсько-цінних генів.

УВ наших дослідженнях було використано 3 типи маркерних систем – RAPD, ISSR, та IRAP.

При аналізі міжсортового ДНК поліморфізму з використанням RAPD маркерів було детектовано 76 ампліфіконів, з яких 57% були поліморфними. Розраховані генетичні дистан-

ції Нея для 11 сортів яблуні вітчизняної та зарубіжної селекції, розмах яких становить від 0,1603 до 0,7309, що свідчить про широкий діапазон генетичного різноманіття.

Спектри ампліфікації з ISSR–маркерами складалися здебільшого з консервативних послідовностей. Рівень міжсортового поліморфізму для даного типу маркерів був на рівні 15%. Цей тип маркерів недоцільно використовувати для аналізу міжсортового поліморфізму яблуні та визначення філогенетичних зв'язків між сортами.

Однією з модифікацій ПЛР є метод виявлення поліморфізму ампліфікованих міжтранспозонних послідовностей – IRAP (inter retrotransposone amplified polymorphism). Найчастіше для нього використовують ретротранспозони, що мають довгі кінцеві повтори – LTR (long terminal repeats) – ділянки, які є найбільш консервативними та зручними для підбору праймерних послідовностей. Саме до такого класу, зокрема Ty1/Copia-like ретротранспозонів, належить соєвий ретротранспозон SIRE-1, який було використано у нашій роботі. Ретротранспозони, або мобільні елементи, є відносно молодими складовими еукаріотичних геномів. Їх здатність до копіювання та розповсюдження в геномі робить їх зручною моделлю для отримання молекулярно-генетичних маркерів, що дозволяють диференціювати саме найближчі генетичні події в геномах, зокрема міжсортові відмінності в рослин та міжпородні – у свійських тварин. За результатами аналізу було детектовано 20 ампліфікаційних фрагментів. Загальний рівень міжсортового поліморфізму становив понад 80%. Були розраховані генетичні дистанції Нея для 8 сортів, які становлять від 0,1625 до 0,9163, що свідчить про широкий діапазон генетичного різноманіття серед досліджуваних сортів.

Кисельов Д.[1,2], Таран М.[1]

МОЖЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ IRAP МАРКЕРІВ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ СТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ГЕНОМУ ДЕРЕВНИХ КУЛЬТУР

[1]Національний університет біоресурсів та природокористування України
вул. Героїв Оборони 15, м. Київ, 03041, Україна, [2]Інститут садівництва НААН України
вул. Садова 6, м. Київ, 03027 , Україна

Мобільні генетичні елементи, що називаються ретротранспозонами, широко розповсюджені в геномах представників царства рослин. Вони представлені великою кількістю копій у геномі більшості рослин та виступають важливим компонентом рослинного геному. Ретротранспозони переміщуються в нові хромосомні локації за допомогою РНК, яка, в свою чергу, конвертується в екстрахромосомальну ДНК за допомогою зворотної транскриптази, ферменту, що був попередньо вбудований у геном. Цей реплікативний метод транспозиції може швидко збільшувати кількість копій елементу і таким чином може значно збільшувати розмір геному рослин. ДНК транспозонні елементи (наприклад *Ac, Tam* та *En/Spm*) транспозуються за механізмом «вирізання/зшивання» та часто не призводять до значної зміни розміру геному. Ретротранспозони, подібні ДНК транспозонним елементам, можуть викликати мутації шляхом вбудування біля або всередині гена. Крім того, ретротранспозон-індуковані мутації відносно стійкі, через те, що транспозиція разом з реплікацією зумовлює стійку нуклеотидну послідовність у сайтах інсерції.

Багато властивостей транспозиційних елементів вказують на їх паразитичний характер. Через те, що вони експресуються в геномі, та їх успадкування проходить за основними законами генетики, їх можна використовувати для досліджень структурної організації геномів вищих рослин.

Ретротранспозони є одним із широко розповсюджених класів мобільних генетичних елементів, що мають довгі кінцеві повтори (LTR) та non – LTR ретротранспозони. LTR ретротранспозони мають таку підкласифікацію - Ty1-*copia* та Ty3-*gypsy* групи, що відрізняються один від одного нуклеотидними послідовностями, ступенем подібності та порядком генів. Ty1-*copia* ретротранспозони представлені по всьому рослинному царству, починаючи від одноклітинних водоростей, закінчуючи покритонасінними рослинами. Ty3-*gypsy* ретротранспозони також широко представлені в рослинному царстві, включаючи голонасінні та

покритонасінні. Обидві групи ретротранспозонів, як правило, мають велику кількість копій у геномі (до кількох мільйонів у гаплоїдному наборі) у рослин з великим геномом.

Особливий інтерес викликає вивчення структурної організації геному вищих рослин, що мають довгий термін життя (деревні культури) з використанням праймерів до LTR- кінців ретротранспозонів.

У наших подальших дослідженнях ми будемо вивчати рівень внутрі- та міжвидового ДНК поліморфізму на основі спектрів ампліфікації до LTR-кінців ретротранспозонів SIRE-1 та BARE-1.

Кисельов Д.[1,2], Тахватулін В.[2], Українець С.[2]

СУЧАСНІ НАПРЯМИ МАРКУВАННЯ ДОМІНАНТНИХ ГЕНІВ СТІЙКОСТІ ПРОТИ ХВОРОБ ЯБЛУНІ

[1]Інститут садівництва НААН України
вул. Садова 6, м. Київ, 03027 , Україна
[2]Національний університет біоресурсів та природокористування України
вул. Героїв Оборони 15, м. Київ, 03041, Україна
ukraine.sergij@gmail.com

Яблуня є провідною плодовою культурою України. На сьогодні відома велика кількість сортів, контрастних за рядом господарсько-цінних ознак. Але більшість із них тією чи іншою мірою сприйнятливі до хвороб, які викликаються вірусами, бактеріями та грибами, що в свою чергу зменшує потенційну врожайність та якість продукції, тому є необхідність створення імунних сортів. Провідне місце у цій роботі займає добір сіянців, який повинен базуватися на використанні молекулярно-генетичних підходів.

Більшість ідентифікованих і маркованих генів зумовлюють моногенну форму резистентності (вертикальну стійкість) до основних фітопатогенів. Виявлена велика кількість (близько 60) молекулярних маркерів, зчеплених з геном стійкості проти парші - *Vf*, який був отриманий від 821 клону *Malus floribunda*.

Цей ген зумовлює стійкість до п'яти рас фітопатогена. Алелі гена Vf – Vfa1, Vfa 2, Vfa 3 та Vfa 4 не містять нітронів і кодують протеїни, насичені лейцином, які локалізовані у трансмембранній області. У молодого листя проходить експресія всіх вищезгаданих алелей, а у зрілому – лише Vfa 4.

Біотехнологічний прийом – клонування генів - був використаний для детекції та картування локусів гена Vf, особливо одного з них, що отримав назву HcrVf2, який використовується для створення резистентних до парші тран генних яблунь.

Нещодавно були ідентифіковані та марковані інші полігенні джерела стійкості до збудників парші, а саме гени Va, Vb, Vbj, Vm та Vr.

На сьогодні творчий колектив співробітників інституту садівництва НААН України та кафедри молекулярної генетики і біобезпеки НУБіП України розробляє комплексні підходи оцінки садивного матеріалу яблуні на наявність домінантних алелей генів стійкості до парші за допомогою молекулярних маркерів.

У цих розробках використовуються різні типи маркерних систем – RAPD, ISSR, SSR, IRAP, SCAR та CAPS. Основною відмінністю цих маркерних систем є локалізація маркера відносно гена. Маркерні системи RAPD, ISSR, SSR та IRAP можуть бути локалізовані як у кодуючих ділянках генів, так і на певній відстані від гена. Якщо маркер локалізований не в гені, але за його допомогою можна диференціювати домінантні алелі гена, то він є зчеплений з геном. Коефіцієнт зчеплення маркера з геном розраховують шляхом аналізу гібридних популяцій. Оптимальними є маркери з коефіцієнтом зчеплення до 2-3сМ. Якщо його значення більше, то достовірність результатів є низьким і такі маркери недоцільно використовувати в селекційно-генетичних програмах.

Маркерні системи типу SCAR та CAPS локалізовані в межах кодуючих ділянок гена та мають монолокусні спектри.

На основі використання молекулярних маркерів до домінантних генів стійкості проти парші розробляється направлена селекційно-генетична програма зі створення імунних до парші сортів яблуні.

Кисельов Д., Шаванова К.

RAPD-АНАЛІЗ СОМАКЛОНАЛЬНИХ ЛІНІЙ ГІРКОКАШТАНА ЗВИЧАЙНОГО (*AESCULUS HIPPOCASTANUM* L.)

Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна
shavanova@gmail.com

У зв'язку з негативним впливом антропогенного навантаження та пошкодженням рослин гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.) мінуючою міллю його застосування в розбудові ландшафтів обмежене (Григорюк та ін., 2004). Нині актуальним є оздоровлення, клонування та прискорене розмноження *A. hippocastanum* L. за допомогою методів культури *in vitro* (Чеченєва та ін., 2010).

Відомостей про наявність чи відсутність геномних перебудов при довготривалому культивуванні *in vitro* гіркокаштана звичайного у доступній літературі не виявлено. Для дослідження наявності або відсутності впливу на геном *A. hippocastanum* L. розроблених нами біотехнологічних підходів і живильних середовищ та перевірки можливості їх довготривалого використання без шкоди для збереження генофонду використано метод RAPD-PCR (Bhat, 1997).

Метою роботи було дослідження молекулярно-генетичних особливостей та мінливості геному калюсних культур гіркокаштана звичайного.

Матеріалом для проведення експериментів слугували 11 зразків трирічних калюсних ліній, отриманих від однієї рослини, та вихідний організм.

Як експлантати при введенні в культуру *in vitro* використовували меристеми листкової пластинки гіркокаштана звичайного. Розмір молодих листкових пластинок становив 3-5 см по центральній жилці. Для подальшого культивування застосовували агаризовані середовища з макро- і мікросолями за прописом MS (Murashige and Skoog, 1962), модифіковані за складом вітамінів і гормонів росту.

ДНК виділяли з використанням гексадецилтриметил амоніум броміду – ЦТАБ (Сиволап, 1998).

Ампліфікацію проводили за модифікованою методикою (Шаванова та ін., 2010). Продукти ампліфікації геномної ДНК з калюсу гіркокаштана аналізували за допомогою електрофорезу в агарозному 2,0 %-ному гелі з додаванням 0,5 мкг/мл бромистого етидію в трис-ацетатному буфері за напруги електричного поля 2 В/см впродовж 7-8 год.

Реакцію ампліфікації проводили у трьох повтореннях для визначення рівня відтворюваності результатів. Опрацювання результатів електрофорезу здійснювали за допомогою пакета програмного забезпечення TotalLab v2.01.

Використання RAPD-праймерів дозволило отримати в сумі 50 фрагментів, з яких шість були поліморфними. Розміри продуктів ампліфікації варіювали в межах від 205 до 2000 п.н. Електрофоретичні спектри мали компактну та рівномірну структуру без виразної кластерізації ампліфікаційних фрагментів з близькою молекулярною масою.

За результатами RAPD-PCR аналізу встановлено сутність феномена спонтанної (сомаклональної) мінливості на молекулярному рівні серед ліній гіркокаштана звичайного одного походження внаслідок довготривалого культивування *in vitro*. Виявлено поліморфні ампліфікони, які вказують на відмінність в організації геному сомаклональних ліній гіркокаштана звичайного.

Значення генетичних дистанцій за Nei коливаються в межах 0 – 0,3747, що свідчить про суттєві зміни генетичного матеріалу в калюсних лініях гіркокаштана звичайного протягом довготривалого культивування *in vitro*. Аналіз на основі розрахованих генетичних дистанцій, проведений методом UPGMA, дозволив кластеризувати досліджувані зразки.

Кізілова В.

МОЖЛИВИЙ ВЗАЄМОЗВ´ЯЗОК ІНТЕНСИВНОСТІ РОСТУ Й АКТИВНОСТІ ЕКСКРЕЦІЇ ЕКЗОПОЛІСАХАРИДІВ У КУЛЬТУРІ *DUNALIELLA VIRIDIS* TEOD.

НДІ біології, Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна
майдан Свободи,4, м.Харків, 61077, Україна
Kizilova86@mail.ru

Мікроводорості синтезують полісахариди, які за своїм складом схожі з пектином – полісахаридом вищих рослин. Пектин, який використовується як желюючий агент у фармакології, косметології та харчової промисловості, потребує попередньої хімічної модифікації (деметилювання). Полісахариди мікроводоростей не потребують попередньої хімічної модифікації. Окрім того, багато видів мікроводоростей екскретують полісахариди як екзометаболіти, що значно полегшує процедури їх виділення та очищення. У зв'язку з цим мікроводорості як продуценти полісахаридів можуть бути більш перспективні ніж вищі рослини.

У даній роботі вивчали активність накопичення екзополісахаридів мікроводорості *D. viridis* на середовищах різного складу. Мікроводорості культивували на стандартному середовищі Артарі, на середовищі Артарі +0,3% та 0,5% етанол, та на середовищі Артарі з $CuSO_4 \times 5H_2O$ різних концентрацій (10, 20 та 75 мг/л) впродовж 21 доби.

Екзополісахариди осаджували з культурального фільтрату методом залуження середовища. Було виявлено, що ступінь осадження полісахаридів нелінійно зростав зі збільшенням pH середовища, при цьому досягався максимум при визначених значеннях pH. Подальше залужування середовища приводило до зниження ефективності осадження полісахаридів.

Вміст екзополісахаридів у культуральному фільтраті був максимальним при культивуванні на стандартному середовищі Артарі (6,84 мкг глюкози/10^6 клітин). Внесення у середовище іонів міді приводило до значного дозозалежного зменшення екзополісахаридів у культуральному фільтраті (у 5,5-10 разів порівняно зі стандартним середовищем Артарі). Внесення у середовище культивування 0,3 та 0,5% етанолу також приводило до значного дозозалежного зменшення вмісту екзополісахаридів (у 9,4 та 11,4 разу, відповідно, порівняноі зі стандартним середовищем Артарі).

Інтенсивність росту мікроводоростей на стандартному середовищі Артарі та на середовищах з різною концентрацією іонів міді була однаковою: концентрація клітин у різних експериментальних варіантах на 21 добу культивування достовірно не відрізнялась. Це дає змогу припустити, що зменшення кількості екзополісахаридів на середовищах з іонами міді пов'язано з інгібуванням активності клітинної екскреції полісахаридів.

Інтенсивність росту мікроводоростей на середовищі з 0,3 та 0,5% етанолом була значно вища, ніж на стандартному середовищі Артарі (у 2,5 рази на 21 добу культивування). Оскільки на середовищах з етанолом вміст екзополісахаридів у культуральному фільтраті зменшувався, можна припустити, що збільшення інтенсивності росту мікроводоростей супроводжується зниженням активності екскреції полісахаридів.

Таким чином, вміст екзополісахаридів у культуральному фільтраті *D.viridis* залежить від інтенсивності росту мікроводоростей та присутності важких металів у середовищі культивування.

Кіося Є.

ХРОМОСОМИ ТИХОХОДІВ *MACROBIOTUS GLEBKAI* BISEROV, 1990

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
пл. Свободи, 4, м. Харків, 61077, Україна
yevgenkiosya@gmail.com

Тихоходи (Tardigrada) демонструють величезну різноманітність способів статевого розмноження. Серед них відомі роздільностатеві види, види, яким властиві різні форми партеногенезу – як мейотичного, так і амейотичного – та гермафродитні види (Bertolani, 1982). Крім того, іноді всередині одного морфотипу тихоходів можна знайти декілька цитотипів,

відмінних за способом розмноження та плоїдністю (Bertolani, 1987). Попри значний прогрес у дослідженні хромосом тихоходів в останні десятиліття (Rebecchi, 1991; Rebecchi et al., 2002; Altiero, 2003), досі вивчено каріотипи лише незначної кількості видів.

У роботі до тихоходів була уперше застосована методика фарбування ацетогематоксиліном та уперше досліджені хромосоми маловивченого виду тихоходів *Macrobiotus glebkai* Biserov, 1990 (Tardigrada: Eutardigrada: Macrobiotidae)

Об'єктом дослідження була локальна популяція тихоходів з проби моху об'ємом 5 куб. см, зібраної в діброві поблизу с. Студенок Ізюмського району Харківської області в липні 2007 р. Проба моху була висушена на повітрі та протягом декількох років зберігалася у паперовому пакеті. Тихоходи у цей час перебували у стані ангідробіозу та зберігали життєзданість. Тихоходів добували з проби за методикою Моргана та Кінга (1976) і розглядали під бінокулярним мікроскопом. Для досліджень хромосом відбирали самиць з великими ооцитами в яєчнику. Їх фіксували у рідині Карнуа з додаванням оцтовокислого заліза (для протрави) та фарбували ацетогематоксиліном, а після цього виймали ооцити та роздавлювали їх у 40% розчині хлоралгідрату в 50% оцтовій кислоті (Щегельская и др., 1984). Усього було досліджено 85 ооцитів, добутих з 28 самиць. Решту особин та відкладені яйця тихоходів готували до скануючої електронної мікроскопії або фарбували ацетокарміном та виготовляли з них постійні мікропрепарати у рідині Фора-Берлезе.

За результатами дослідження було встановлено, що тихоходи *M. glebkai* мають диплоїдний набір хромосом 2n=12. Переважна більшість ооцитів (90%) знаходилася на стадії метафази I мейозу. Крім того, подекуди були знайдені пізня профаза I (диплотена-діакінез), анафаза I та телофаза I. Відмічено асинхронне входження хромосом в анафазу. Ооцити, добуті з однієї самиці, завжди перебували на однаковій стадії дозрівання.

У метафазі спостерігалося 6 бівалентів, вишикуваних уздовж веретена поділу; усі вони мали подібну будову та сягали від 2,5 до 3,5 мкм довжини. У складі кожної хроматиди можна було виокремити три ділянки: 1) велику щільну частину біля екватора веретена поділу, 2) тонку, частково деспіралізовану частину посередині гомолога та 3) невелику щільну частину наприкінці хромосоми. За виглядом хромосоми *M. glebkai* дуже схожі на хромосоми *Paramacrobiotus* cf. *richtersi* (Murray, 1911), які за літературними даними є акроцентричними (Altiero, 2003).

M. glebkai, вочевидь, є роздільностатевим амфіміктичним видом, оскільки в дослідженій локальній популяції були знайдені особини обох статей, а в статевих шляхах декількох самиць були знайдені сперматозоїди. Крім того, розташування хромосом в овоґенезі цих тихоходів є типовим саме для амфіміктичних цитотипів тихоходів та досить сильно відрізняється від такого у більшості партеногенетичних цитотипів.

Автор щиро дякує за допомогу науковому керівникові - проф. В.В. Клименко, а також проф. Р. Бертолані та доц. Т. Альтієро (Університет Модени та Реджо Емілії, Італія).

Кляченко О., Криловська С.

КЛІТИННА СЕЛЕКЦІЯ НА СТІЙКІСТЬ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ (*BETA VULGARIS* L.) ДО ПОСУХИ

Національний університет біоресурсів та природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна
krylovskaya.sv@i.ua

Одним з актуальних напрямів покращення стану бурякоцукрового виробництва України є впровадження у виробництво нових, покращених по ряду показників, сортів. Враховуючи зміни, які спостерігаються в кліматичних умовах України, промислове виробництво потребує отримання як нових посухостійких сортів та гібридів, так і посухостійких форм вже існуючих (Федулова Т.П., 2008).

Метою нашої роботи було отримання посухостійких ліній цукрових буряків з використанням індукованого мутагенезу.

Об'єктом досліджень були генотипи цукрових буряків: О-тип гібриду БЦЧС 57, ЧС форма БЦЧС 57, гібрид БЦЧС 57. Для підвищення генетичної варіабельності клітинних популяцій як мутагенний фактор використовували γ-опромінення в дозі 20 Гр (Малієнко В.А., 2001). Як селективний агент використовували поліетиленгліколь (ПЕГ 6000) у концентрації 10, 20, 30, 40% (Батоев Б.Б., 2001). Сублетальною виявилась 20% концентрація ПЕГ 6000 при якій спостерігалося значне зменшення приросту калусних тканин цукрових буряків.

Оброблені γ-опроміненням мікрокалуси висаджували на середовища сублетальної концентрації ПЕГ 6000 та проводили селекцію за такою схемою: 1-3, пасажі на середовищі з селективним фактором; 4-6, на середовищі без селективного фактора; 7-9, на селективному середовищі. У результаті досліджень вдалося виділити 4% резистентних клонів цукрових буряків (Шек Г.О., Созинова Л.Ф., 2005).

Таким чином, у результаті поступових відборів були виділені резистентні клітинні клони, які стабільно зберігають ознаку посухостійкості. При цьому використання індукованого мутагенезу дає можливість ефективно проводити відбір посухостійких ліній цукрових буряків.

Коломієць Ю., Свінціцька О.

КЛІТИННА СЕЛЕКЦІЯ ТОМАТІВ НА СТІЙКІСТЬ ДО ЗБУДНИКА БАКТЕРІОЗУ *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *TOMATO*

Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна
julyja@i.ua

Томат – одна з найпоширеніших важливих овочевих культур у світі, обсяги споживання якої постійно зростають. В Україні томату належить одне із провідних місць у забезпеченні населення високовітамінними продуктами харчування. Селекційно-генетичні роботи направлені на підвищення продуктивності та забезпечення рослин стійкістю до фітопатогенів, різних біотичних і абіотичних факторів. Використання стійких сортів і гібридів є найбільш перспективним методом боротьби з бактеріозами томатів. Для створення селекційного матеріалу, стійкого до патогенів, дедалі ширше використовується метод клітинної селекції з використанням культури клітин і тканин.

Метою роботи було одержання калюсних ліній томатів, стійких до збудника бактеріозу *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe 1933) Yong, Dye & Wilkie 1978.

Важливим етапом робіт з клітинної селекції, для одержання стійких до патогену ліній, є виділення фітотоксичних метаболітів і підбір їхніх робочих концентрацій. Як селективний фактор використовували ліпополісахарид (ЛПС) *P. syringae* pv. *tomato*, який є одним із факторів патогенності фітопатогенних бактерій. ЛПС екстрагували фізіологічним розчином та очищали діалізом і ультрацентрифугуванням.

Об'єктами наших досліджень були калюсні тканини 6 генотипів томатів: сорти – Дружба, Оксамит, Флора, гібриди – Тарасенко-2, Тарасенко Ювілейний, Союз-8. Для одержання калюсної культури томатів використовували середовище Мурасіге-Скуга (МС) доповнене кінетином, індолілоцтовою кислотою. Суспензійну культуру одержували перенесенням шматочків калюсу в рідке поживне середовище МС, того ж складу.

Дослідження з клітинної селекції на стійкість до ЛПС вели за схемою: селективне середовище (3 пасажі) – контрольне середовище (3 пасажі) – селективне середовище (3 пасажі).

Сублетальну концентрацію ЛПС визначали, висаджуючи суспензійну культуру на селективні середовища з різною концентрацією: 1, 2, 3, 4, 5, 6 г/л. На контрольному середовищі (без ЛПС) маса калюсу залежала від генотипу і в середньому становила для сортів Дружба – 1,12 ± 0,13 г, Оксамит – 1,56 ± 0,24 г, Флора – 1,64 ± 0,06 г, гібридів Тарасенко-2 – 0,67 ± 0,24 г, Тарасенко Ювілейний 0,63 ± 0,20 г, Союз-8 0,98 ± 0,11 г. Найменша концентрація ЛПС 1 г/л *P. syringae* pv. *tomato* суттєво не впливала на приріст і життєздатність калюсної тканини різних генотипів томатів, порівняно з контролем. Концентрація 6 г/л ЛПС у середовищі виявилася лета-

льною, так як до кінця першого пасажу всі калюси загинули. Встановлено, що для всіх досліджуваних генотипів цукрових томатів сублетальна концентрація ЛПС становить 4 г/л, за якої спостерігали суттєве зменшення приросту калюсу. У кінці першого селективного відбору частка калюсів, здатних до росту, становила від 4 до 26% залежно від задіяного генотипу.

Таким чином, у результаті проведених досліджень з використанням ЛПС одержано калюсні лінії 6 генотипів томатів, резистентні до збудника бактеріозу *P. syringae* pv. *tomato*.

Кундєєв М., Пирог Т., Софілканич А.

ВІДХОДІВ ВИРОБНИЦТВ ЯК ПОТЕНЦІЙНІ СУБСТРАТИ ДЛЯ БІОСИНТЕЗУ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* ЕК-1

Національний університет харчових технологій
вул. Володимирська, 68, м. Київ, 01601, Україна
anmo_july@mail.ru

Однією з глобальних проблем є відходи різноманітних виробництв - такі як, наприклад, відходи виробництва масла та жирів (фузи), цукру (меляса), а також значні кількості відпрацьованої (пересмаженої) олії, що застосовується у закладах громадського харчування. У результаті виробництва біодизелю з рослинної сировини як побічний продукт у великій кількості утворюється гліцерин, який в подальшому не знаходить широкого застосування.

Раціональний підхід до утилізації відходів полягає у зменшені їх кількості, повторному використанні та переробці з метою отримання практично цінних продуктів, у тому числі й мікробного синтезу.

Унікальні особливості мікробних поверхнево-активних речовин (ПАР) зумовлюють їх використання у різноманітних галузях промисловості замість хімічно-синтезованих аналогів. ПАР мікробного походження застосовують у нафтовидобувній, хімічній, фармацевтичній, харчовій промисловості, сільському господарстві, а також для очищення навколишнього середовища від вуглеводнів і важких металів. Але раціональне використання ПАР мікробного походження залежить насамперед від економічної ефективності їх виробництва. Одним зі способів здешевлення технології мікробних ПАР є використання дешевих ростових субстратів, наприклад, відходів інших виробництв.

Раніше зі зразків забрудненого нафтою ґрунту були ізольовані нафтоокиснювальні бактерії, ідентифіковані як *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1. Показано, що штам ЕК-1 є активним продуцентом ПАР. Встановлені оптимальні для утворення ПАР умови культивування *R. erythropolis* ЕК-1 на етанолі та гексадекані, що дозволило підвищити показники синтезу цільового продукту у 3-4 рази.

Мета даної роботи – дослідження синтезу ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 за використання як ростових субстратів промислових відходів.

Враховуючи хімічний склад ПАР, синтезованих *R. erythropolis* ЕК-1 (комплекс гліко-, фосфо- і нейтральних ліпідів), а також можливість підвищення ефективності синтезу мікробних метаболітів за присутності екзогенних попередників (жирних кислот), ми припустили, що потенційним дешевим субстратом для вирощування штаму ЕК-1 можуть бути відходи виробництва рослинних олій, що містять у своєму складі жирні кислоти, тригліцериди, фосфатиди.

Показано, що в результаті культивування *R. erythropolis* ЕК-1 на жировмісних середовищах показники синтезу ПАР не поступаються таким на гексадекані та рідких парафінах (контрольні субстрати), а у деяких випадках навіть перевищують контрольні, концентрація яких була у 2–4 рази вища.

Отже, у результаті проведених досліджень встановлено можливість використання гліцерину – побічного продукту виробництва біодизелю, а також відходів харчових виробництв (олієжирової, цукрової промисловості) як субстратів для одержання мікробних поверхнево-активних речовин.

Куцоконь Н.[2], Нежигай Л.[1], Чеченєва Т.[1,3]

ВПЛИВ МІКОТОКСИНІВ ГРИБІВ РОДУ *FUSARIUM* НА МІТОТИЧНУ АКТИВНІСТЬ КЛІТИН ЕУКАРІОТ

[1]Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна
[2]Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАНУ
вул. Акад. Заболотного, 148, м. Київ, 03143, Україна
[1,3]Інститут фізіології рослин і генетики НАНУ
вул. Васильківська. 31/17, м. Київ, 03022, Україна

Гриби роду Fusarium синтезують мікотоксини: ДОН, ДАС, Т-2, фумонізини, зеараленон, моніліформін, фузарохроманон. Мікотоксини відрізняються між собою хімічною будовою, токсичністю та механізмом дії. У тварин і людини вони спричинюють отруєння – мікотоксикози. Дія на рослини вивчена порівняно мало, в основному досліджено вплив ДОН, ДАС, Т-2. Відмічають пригнічення росту рослин і проростання зерна, зниження регенераційної здатності калюсів, в'янення, хлорози і некрози (Cutler, 1988; McLean, 1996). Вважають також, що трихотеценові мікотоксини знижують стійкість рослинного організму до грибної інфекції (Proctor et al., 1995).

У клітинах еукаріот трихотецени інгібують функції мітохондрій, пригнічують синтез білків, ДНК та РНК, таким чином впливаючи на проходження клітинного циклу, індукують. Виявлено зниження мітотичного індексу (МІ) під впливом ДОН та ДАС у меристемах жита, пшениці, тритікале та кінських бобів, цибулі (Packa, 1997; Rahman et al., 1993).

Відмічають здатність трихотеценів порушувати нормальне розходження хромосом до полюсів клітини під час поділу, що спричинює появу хромосомних аберацій, триполярних анафаз, відстаючих хромосом, мікроядер і т. п. (Packa et al., 1991). Під впливом фумонізину В1 (*F. moniliforme*) (Jones et al., 2001), ДОН та зеараленону (Kouadio et al., 2005) в культурах клітин ссавців відбувається індукція апоптозу. Пригнічення мітотичної активності, зміни структури та числа хромосом спостерігаються в мишей під впливом ДАС (Hassanane M. et al., 2000).

Власні дослідження впливу ДОН на меристеми коренів озимої пшениці здійснено на проростках сорту Ятрань 60. Насіння пророщували за концентрації токсину 5 мкг/мл, по 5 мл розчину на чашку Петрі (30 насінин), протягом 48 годин при температурі 25ºС. Фіксували кінчики корінців довжиною 5 мм у фіксаторі Кларка (3:1). Мацерацію проводили в 1н HCl, препарати фарбували 1% ацетоорсеїном. Цитологічні дослідження проводили на тимчасових давлених препаратах. Розраховували величину мітотичного індексу (МІ) і відносну тривалість кожної з фаз мітозу.

В цілому, порівняно з контролем характерно пригнічення росту корінців на 20-30%. Спостерігали суттєве зниження величини МІ під дією ДОН порівняно з контролем - 82,20‰ та 41,22‰ відповідно. Обробка токсином спричиняла незначне зменшення відносної тривалості профази (33,09% та 37,22% - контроль), суттєве збільшення частки метафаз (30,94% та 21,05% - контроль). Крім того, спостерігали збільшення відносної тривалості анафази (19,42% та 15,41% - контроль) і різке зменшення – телофаз (26,32% та 16,55% - контроль). Слід відмітити збільшення спільної відносної тривалості про- і метафаз та відповідне зменшення частки ана- і телофаз під впливом ДОН. Отримані результати можна пояснити надмірною конденсацією хроматину та порушеннями під впливом ДОН веретена поділу клітин. Значне пригнічення мітотичної активності під впливом токсину пояснює уповільнення росту рослин. Відмічені цитогенетичні ефекти цілком узгоджуються з даними аналогічних досліджень інших авторів.

Проведена робота є базовою для подальших порівняльних дослідженнь впливу ДОН на цитогенетичні параметри сортів з різним ступенем стійкості до фузаріозу.

Лучко К.

ПОПУЛЯЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ПРОЯВУ АГРЕСИВНОСТІ У ЛЮДИНИ (НА ПРИКЛАДІ НАСЕЛЕННЯ МІСТА ХАРКОВА)

Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна
пл. Свободи, 4, м. Харків, 61077, Україна
ekaterina_luchko@mail.ru

Агресивність є однією з центральних характеристик особи. Агресивність виникла еволюційно унаслідок боротьби за завжди обмежені життєві ресурси, гарантуючи, таким чином, виживання виду. Згідно з Р.Бероном і Д.Річардсоном (2001), агресія – це будь-яка форма поведінки, націленої на спричинення шкоди іншій живій істоті, що не бажає подібного поводження. У людини розрізняють п'ять видів агресивності – вербальна, непряма, фізична, реактивна і проактивна (Dodge, Coie, 1987). У тварин і у людини агресивність є природженою у відповідь реакцією на потенційну загрозу або провокацію. Агресивність у людини, оскільки вона ініціює конфлікти, пов'язують зі злочинністю. Вважається, що саме ця особова характеристика лежить в основі багатьох видів кримінальної поведінки. У прояві агресивності є генетична компонента (Berhmann, 1984). Як і будь-які ознаки з генетичною компонентою, вираженість агресії може залежати від структури популяції. Тому важливо отримати інформацію про зв'язок між вираженістю агресивності залежно від структури популяції, оскільки в останні десятиліття спостерігаються значні зміни у структурі людських популяцій (Алтухов, 2001, Курбатова, 2005).

У дослідженні взяли участь 2020 жителів міста Харкова. 77,5% чоловіків і 80,8% жінок були українцями, 16,9% чоловіків і 16,1% жінок - росіянами. Інші національності (5,6% чоловіків і 3,1% жінок) були представлені євреями, білорусами, греками та ін. Збір інформації проведений з урахуванням етичних вимог при роботі з людиною. Проактивну і реактивну агресивність вивчали за допомогою модифікованої версії опитувальника FPI (Балін, Айда і ін., 2000). Рівень агресивності оцінювали в балах. Для оцінки проактивної та реактивної агресивності використана інформація про 188 пар «батько-нащадок», 62 сибсові пари і 22 шлюбні пари. За віком і національним складом групи чоловіків і жінок були порівнянні. Перевірка розподілу дат у групах на відповідність нормальному закону проведена методом Колмогорова-Смірнова. Порівняння середніх арифметичних проведено з використанням критерію *t*. База даних і розрахунки проведені в програмі Microsoft Excel.

У результаті дослідження було встановлено, що найвищі коефіцієнти кореляції з реактивної агресивності спостерігалися в групі сибсів (ρ = 0,36, p<0,001). Був виявлений статистично значимий зв'язок між батьками і нащадками по спонтанній і реактивній агресивності. З віком матері у дочок трохи знижується спонтанна агресивність (ρ = –0,09, p<0,05). Коефіцієнти кореляції між шлюбною різницею і спонтанною агресивністю становили ρ = 0,14 (p<0,05). Дослідження показали, що у жінок молодшого покоління спостерігається вищий рівень реактивної агресивності (ρ = 6,1, p<0,001) порівняно з жінками старшого покоління (ρ = 5,2, p<0,001). Спадковість спонтанної агресивності у вивченій популяції становить 26%, реактивної - 72%.

Дослідження є фрагментом науково-дослідницького проекту з психогенетики, підтриманого грантом Президента України «Оцінка інтелектуального потенціалу молоді України засобами генетики». Висловлюю вдячність О.В.Філіпцовій за частину матеріалу, наданого для аналізу, і за допомогу в освоєнні психометричних методик.

Маньковська О., Терновська Т.

ГЕНОМНИЙ СТРЕС В ІНТРОГРЕСИВНИХ ЛІНІЯХ З ХРОМОСОМОЮ 4SL

Національний університет «Києво-Могилянська академія»
вул. Г. Сковороди, 2, м. Київ, 04655, Україна

Залучення чужинних генів до генофонду м'якої пшениці пов'язано з необхідністю поповнювати запас вертикальних генів стійкості до хвороб пшениці. Внесення у геном пшениці хроматину, який геномом впізнається як чужий, викликає події, які сучасною генетикою називаються геномним стресом і можуть пояснюватися дією будь-яких механізмів епігенетичних змін. Саме тому успішне перенесення генів стійкості від інтрогресивних ліній до м'якої пшениці перш за все пов'язане з можливістю зменшення кількості чужинного хроматину. Одним із механізмів такого зменшення є використання гаметоцидних хромосом *Triticinae*, зокрема 4Sl, які викликають розрив і перекомбінування ділянок хромосом у геномі, що має гібридне походження. Негативним наслідком цих подій є зниження фертильності рослин аж до повної стерильності.

Інтрогресивні лінії *Triticum aestivum/Aegilops sharonensis* з хромосомою 4Sl та без неї схрещували з гібридами F1 (материнський компонент), отриманими від схрещування: інтрогресивних ліній *T. aestivum/Ae. speltoides, T aestivum/Ae.umbellulata, T aestivum /Ae.sharonensis* одна з одною та з сортами м'якої пшениці Аврора, Одеська 267. Вивчали фертильність рослин F1, генотип материнських компонентів схрещування за геном *β-Amy-1* та частоту передачі хромосоми $4S^l$ нащадкам; кількість хромосом у нащадків F_2.

Фертильність гібридів F1 коливалась від 0 до 1,39 зернин на колос. Розподіл частот варіант демонстрував різку асиметрію (As=2,27±0.12, t=19,3), тому окремі групи рослин охарактеризовано середніми рангами. У рамках дисперсійного комплексу Крускала-Уолліса досліджувалось питання, чи відрізняються середні ранги залежно від того: 1) чи має лінія *T aestivum/Ae.sharonensis* гаметоцидну хромосому, чи ні; 2) чи є материнський компонент схрещування гібридом між інтрогресивними лініями, чи у схрещуванні брав участь сорт м'якої пшениці; 3) які саме інтрогресивні лінії дали початок материнському компоненту схрещування. Не виявлено розбіжностей за фертильністю між групами гібридів, які містили чи не містили хромосому 4Sl. Це можна пояснити наслідками аберантних подій, які мали місце при формування геномів інтрогресивних ліній, у родоводі яких була хромосома $4S^l$, що можна назвати геномним стресом. Різну фертильність мали гібриди, материнський компонент яких походив від схрещування тільки інтрогресивних ліній чи включав у родовід сорти м'якої пшениці. При порівнянні гібридів, які вели походження від схрещування виключно інтрогресивних ліній, розбіжності між групами виявились також статистично значущими. Найвищою фертильністю характеризується група ліній, у походженні якої брали участь інтрогресивні лінії *T aestivum/Ae.sharonensis,* найнижчою – група ліній, у походженні якої обов'язково брали участь лінії *T aestivum/ Ae.umbellulata*. Отже, ні наявність у геномі гібрида гаметоцидної хромосоми 4Sl, ні, у випадку її відсутності у гібриді, участь цієї хромосоми в походженні гібридного матеріалу, не призводить до повної стерильності нащадків.

Для аналізу конституції гібридних рослин F1, використали ген β-*Amy-1*, алель якого β-*Amy-Sl1* є маркером наявності хромосоми 4Sl. Як наслідок гаметоцидної дії хромосоми 4Sl в утворенні нащадків F2 мають брати переважну участь гамети, які містять хромосому 4Sl. Насправді для низки комбінацій спостерігався надлишок гетерозигот β-*Amy-Sl1* β-*Amy-D1* проти обох типів гомозигот. Це може бути пояснено тільки стабільною гетерозиготністю одного з компонентів схрещування, яка могла виникнути під час її створення через утворення транслокованих хромосом. Кількість хромосом серед нащадків F2 коливалась від 39 до 45, спостерігали дицентрики, чотири супутні хромосоми замість двох, до чотирьох телоцентричних хромосом, дуже маленькі хромосоми, яких не буває у сорту Аврора.

Матійців Н., Труш О.

ВПЛИВ ТЕТРАЦИКЛІНУ НА ЕКСПРЕСИВНІСТЬ ТА ПЕНЕТРАНТНІСТЬ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНОГО ФЕНОТИПУ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул..Грушевського 4, м.Львів, Україна
h.trush@gmail.com

Бактерії роду *Wolbachia* - це, переважно, ендосимбіотичні мікроорганізми, що належать до родини рикетсій, передаються по материнській лінії і вже виявлені у більш ніж одного мільйона видів комах. У деяких видів вольбахія здатна спричиняти явище цитоплазматичної несумісності, партеногенезу чи фемінізації. Тетрациклін є ефективним засобом лікування комах від цього мікроорганізму.

Серед інших існують дані, що дають змогу стверджувати про паразитичний вплив вольбахії на організм господаря. Це виявляється у вакуолізації та апоптозі різних тканин і, зокрема, тканини мозку дорослих особин *D. melanogaster.* Схожі ознаки, зокрема, вакуолізація тканини мозку з подальшим відмиранням нейронів, характерні й для нейродегенеративних мутантів *D. melanogaster*.

Для виявлення впливу даного мікроорганізму на пенетрантність і експресивність нейродегенеративного фенотипу мутантів нашої колекції було проведено лікування мух тетрацикліном шляхом личинкового згодовування протягом 3-4 поколінь та порівняльний аналіз парафінових зрізів тканини мозку пролікованих та нелікованих особин досліджуваних ліній.

Одержані результати показали суттєве зниження експресивності нейродегенеративного фенотипу під впливом тетрацикліну частини досліджуваних ліній, зокрема, у ліній *76-15, 28-11* та *sws* ^{olfE} інтенсивність прояву мутантного фенотипу знизилась, у середньому, на 25-30% порівняно з контролем, тоді як у лінії 72-7 не спостерігалося суттєвих змін під впливом тетрацикліну. Пенетрантність у всіх досліджуваних ліній зросла під впливом антибіотика на 5-6%, найімовірніше, це зумовлено загальною токсичною дією тетрацикліну на організм мух.

На основі цих результатів можна припустити, що мікроорганізм роду *Wolbachia*, якого було усунено шляхом тетрациклінової терапії, виявляє модифікуючий вплив на інтенсивність прояву нейродегенеративного фенотипу мутантів *D. melanogaster.*

Осташ Б., Рабик М., Федоренко В.

ВИЯВЛЕННЯ І ВИВЧЕННЯ РЕГУЛЯТОРНИХ ГЕНІВ *AbsA2gh* І wblA*gh* У ШТАМІ *STREPTOMYCES GHANAENSIS* ATCC 14672

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
Availl@i.ua

Фосфогліколіпідний антибіотик моеноміцин А (МмА) продуцентом якого є штам *Streptomyces ghanaensis* ATCC 14672, виявляє високу активність проти багатьох грампозитивних бактерій. Моеноміцини — єдині відомі природні речовини, що безпосередньо інгібують пептидоглікан-глікозилтрансферази - висококонсервативні білки, що каталізують полімеризацію дисахаридних мономерів бактерійного пептидоглікану. Тому ці ферменти вважаються перспективними мішенями для створення нових типів антибіотиків. МмА активний у наномолярних концентраціях і пригнічує бактерії, яким властива множинна резистентність до інших антибіотиків. Незважаючи на унікальні структуру і механізм дії, ці сполуки не застосовуються в медицині у зв'язку з небажаними фармакокінетичними параметрами, але використовуються у тваринництві.

Результати секвенування і гетерологічної експресії кластерів генів біосинтезу МмА (*moe*) вказують на те, що вони не містять шлях-специфічних регуляторних генів. Що відрізняє їх від кластерів генів біосинтезу інших антибіотиків (Ostash B. et al., 2009). Проте, аналіз генома *S. ghanaensis* виявив присутність ортологів багатьох добре досліджених плейо-

тропних регуляторів стрептоміцетів, зокрема *S. coelicolor,* що належать до *abs*-, *afs*- і *nsd*-родин. Нещодавно доведено, що плейотропні регулятори *S. coelicolor afsS* і *relA* збільшують продукцію ММА за гетерологічних умов, а експерименти з титруванням промоторів ключових генів синтезу ММА вказують на вплив позитивних транскрипційних регуляторів на експресію *moe*-кластера (Makitrynskyy R. et al.).

Робота присвячена вивченню генів, що контролюють негативні регулятори вторинного метаболізму і морфогенезу стрептоміцетів, які виявлено в геномі *S. ghanaensis* - *absA2gh* і *wblAgh.* Ген *absA2gh* кодує білок, що має високий рівень гомології до білків-ефекторів двокомпонентних систем із *S. coelicolor*, *S. lividans*, *S. avermitilis*, *S. albus* та *S. griseus*. Ген *wblAgh* кодує негативний регулятор whiB-родини – транскрипційних факторів *Actinobacteria*, необхідних для диференціації та споруляції.

Використавши переваги секвенованого генома *S. ghanaensis*, гени *absA2gh* та *wblAgh* ампліфіковано та клоновано у човниковий вектор pKC1139 з метою надекспресії генів у штамі-продуценті ММА. Отримані конструкції pKCabsA2gh та pKCwblAgh, а також вектор pKC1139, як контроль, перенесли у штам *S. ghanaensis* за допомогою міжродової кон'югації із *E. coli* ET12567 (pUB307).

Отримані екскон'юганти не виявляли значних змін у фенотипі. Метод дифузії в агар використано для аналізу й оцінки антибактерійної активності екстрактів із отриманих штамів проти *B. subtilis*. Встановлено, що в штамах *S. ghanaensis* (+pKCwblAgh) та *S. ghanaensis* (+pKCabsA2gh) відбувається значне падіння синтезу ММА, зокрема, сильніший ефект спостерігався при надекспресії гена *wblAgh.* Дані результати вказують на те, що гени *absA2gh* та *wblAgh* виявляють негативний ефект на продукцію ММА. Дальше спрямоване руйнування цих генів у геномі *S. ghanaensis* та ЗТ-ПЛР-експерименти дадуть змогу детальніше вивчити функцію цих регуляторів.

Петров І.

РЕЗИСТЕНТНА СТІЙКІСТЬ ПРИРОДНИХ І ШТУЧНО СКОНСТРУЙОВАНИХ МІКРОБНИХ АСОЦІАТІВ ВІДНОСНО АНТИБІОТИКІВ, ПАТОГЕННИХ ТА УМОВНО-ПАТОГЕННИХ КУЛЬТУР

Харківський національний університет імені В.Н. Каразина
майдан Свободи, 4, м. Харків, 61077, Україна
i.petrov@emcu.com.ua

На сьогоднішній день у біотехнології одним з перспективних напрямків є вивчення механізмів взаємодії між різними видами мікроорганізмів, що приводять до формування мікробних асоціатів [Бокун, 2002]. У природних умовах вони проявляють іншу продуктивність порівняно з монокультурами, залишаючись стійкими з часом і високоадаптивними [Янковський, 2005]. Механізми адаптації являють собою не тільки перебудову біохімічних реакцій, й формування якісного та кількісного складу мікробних асоціатів [Бережной, 2002].

У зв'язку з цим, завданням дослідження було визначити резистентну стійкість природних асоціатів, виділених з капролітів червів E.foetida, біогумусу та штучно сконструйованих, відносно антибіотиків, патогенних і умовно-патогенних культур.

Як об'єкти дослідження використовували мікробні інокуляти, виділені з капролітів червів Eisenia foetida та біогумусу, а також штами бактерій молочнокислих (L.lactis subsp. lactis B-2681T, L. fermentum B -2664, L. plantarum B-2629, L.acidophilus B-2637), пропіоновокислих (P. freudenreichi subsp. shermani B -7002), ацетобактерій (A. aceti), дріжджів (S cerevisiae Y-2474) і їх композиції. При проведенні дослідження використовували такі поживні середовища: лактобакагар, стерилізоване знежирене молоко, середовище MRS. Антагоністичні властивості досліджуваних мікробних інокулятів визначали методом перпендикулярних штрихів з тест-штамами *Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aureginosa, Escherichia coli* 078 [Єгоров, 1986]. Стійкість до антибіотиків визначали за допомогою дискодифузійного методу. Застосовувалися диски з найбільш розповсюдженими антибіотиками:

флорфенікол, енрофлоксацин, офлоксацин, ципрофлоксацин, норфлоксацин, тетрациклін, левоміцетин, неоміцин і гентаміцин. Сформовано три групи мікробних асоціатів, що мали такий склад: асоціат №1(%, об): L. lactis sabsp. lactis B -2681T - 0,3, L. fermentum B-2664 - 0,3, L. plantarum B-2629 - 0,3, S. cerevisiae Y-2474 - 0,1; асоціат №2(%, об): L. lactis sabsp. lactis B -2681T - 0,3, L. fermentum B-2664 - 0,3, L. plantarum B-2629 - 0,3, P. freudenreichi subsp. shermani B -7002 - 0,1; асоціат №3(%, об): L. lactis sabsp. lactis B -2681T - 0,3, L. fermentum B-2664 - 0,3, L. plantarum B-2629 - 0,3, A. aceti - 0,1.

Досліджувані мікробні інокуляти, виділені з капролітів червів *E. foetida* та біогумусу, не пригнічували ріст тест-культур, але проявляли резистентну стійкість відносно всіх досліджуваних антибіотиків. Штучно сконструйований асоціат №3 проявляв низьку антагоністичну активність щодо *E. coli* 078 (зона затримки росту була 10,00 ±1,10 мм), на відміну від асоціатів №1 та №2, котрі не пригнічували ріст тест-культур. У результаті вивчення їх чутливості до антибіотиків встановлено, що асоціат №1 чутливий до левоміцетину, високо чутливий до тетрацикліну та резистентний щодо інших досліджуваних антибіотиків. Асоціат №2 виявився помірно чутливим до офлоксацину, норфлоксацину та неоміцину, чутливим до ципрофлоксацину та високо чутливим щодо інших досліджуваних антибіотиків. Асоціат №3 проявляв помірну чутливість до офлоксацину, неоміцину та тетрацикліну, високу чутливість до тетрацикліну, левоміцетину, ципрофлоксацину та резистентність щодо норфлоксацину. Найбільші зони затримки росту спостерігалися в присутності левоміцетину (№2 - 29,00±1,20; №3 - 32-,00±1,10) та енрофлоксацину (№2 - 31,00±1,00).

Сисенко О.

ПРОДУКТИВНІСТЬ МІКРОВОДОРОСТЕЙ *CHLORELLA VULGARIS* В УМОВАХ КВАЗІНЕПЕРЕРВНОГО КУЛЬТИВУВАННЯ.

НДІ біології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна,
пл. Свободи 4, м.Харків, Україна
Hilena1@yandex.ru

Біомаса мікроводоростей є джерелом біологічно активних сполук, які використовуються у фармакології та косметології. Однією з найважливіших проблем масового культивування мікроводоростей є відносно низька продуктивність культур та, внаслідок цього, висока собівартість біомаси мікроводоростей. У зв'язку з цим пошук стимуляторів росту, розробка режимів культивування, які дозволять без додаткових матеріальних витрат збільшити продуктивність мікроводоростей, є актуальним для підвищення рентабельності технологій масового культивування мікроводоростей.

У зв'язку з цим у даній роботі вивчали вплив різних режимів квазінеперервного культивування на інтенсивність росту одноклітинній мікроводорості *Ch. vulgaris*.

Мікроводорості культивували на середовищі Тамія у плоских культиваторах в умовах цілодобового освітлення 4 кЛк та при температурі 30°С. Квазінеперервне культивування здійснювали шляхом регулярного відбору (кожну 6 добу) 10, 20, 30, 40, 50 та 60% об'єму клітинного середовища (6 варіантів відбору) та внесення свіжого середовища Тамія (10, 20, 30, 40, 50 та 60% від об'єму культури). Регулярний відбір культури починали з 8 доби росту (у фазі експоненціального росту).

Було виявлено, що в умовах квазінеперевного культивування максимальний сумарний вихід біомаси спостерігався при регулярному відборі 50% культури. В даних умовах за 55 діб культивування було отримано 13,0 г сухої біомаси/л. В умовах неперервного культивування на 55 добу було отримано 5,0 г сухої біомаси/л. Варто зауважити, що в умовах квазінеперервного культивування питома швидкість та середній час подвоювання клітин суттєво не змінюється (0,14 та 8,8 відповідно) і зберігається на рівні показників експоненціальної фази (8 доба росту) за час усього культивування. В умовах неперервного культивування питома швидкість росту і середній час подвоювання різко зменшувався після виходу у стаціонарну фазу росту (11 доба росту).

Однак, незважаючи на те, що в умовах квазінеперевного культивування питома швидкість росту зберігалась на високому рівні, зі збільшенням порядкового номера відбору вихід сухої біомаси зменшувався. Так, якщо для 3-го відбору вихід біомаси становив 4,0 г/л, то для 10-12 відборів вихід біомаси становив 1,0 г/л.

Одночасне внесення 0,3% етанолу та свіжого середовища Тамія (після чергового відбору 50% культури) значно збільшувало вихід сухої біомаси мікроводоростей при наступному відборі (5,0 – 8,0 г/л). Високий рівень виходу біомаси зберігався і на 12-му відборі (7,0 г/л). У результаті регулярне внесення етанолу приводило до значного збільшення сумарного виходу сухої біомаси мікроводоростей: за 55 діб було отримано 17,0 г сухої біомаси/л (без внесення етанолу у результаті регулярних відборів за той же час було отримано 13,0 г сухої біомаси/л).

Таким чином, квазінеперервне культивування дозволяє у 2,6 разів збільшити продуктивність мікроводоростей *Ch. vulgaris.* Внесення у середу Тамія етанолу (0,3%) приводить до додаткового збільшення продуктивності культури. Припускається, що ріст-стимулювальний вплив низьких концентрацій етанолу пов'язаний з регуляторним ефектом на рівні систем вторинних месенжерів.

Терновська Т., Шпильчин В.

ЗМІНА ПРОЯВУ ОЗНАКИ ВОСКОВА ОСУГА У ПОКОЛІННЯХ ШТУЧНИХ АМФІДИПЛОЇДІВ ПІДТРИБИ *TRITICINAE*

Національний університет «Києво-Могилянська академія»
вул. Г. Сковороди, 2, Київ, 04655, Україна

Поверхня листка, а в більшості випадків і поверхня стебла пшениці може бути вкрита воскоподібною речовиною, що називається восковою осугою. Серед представників підтриби *Triticinae* поширені як рослини з восковою осугою, так і ті, що її не мають. Відомо, що наявність осуги зумовлюється генами *W*, які розташовані на коротких плечах хромосом 2B та 2D (McIntosh, 1998). Відсутність воскової осуги пояснюється інгібуванням синтезу B-дикетонів, за що відповідає ген-інгібітор *W2*, розташований на плечі 2DS виду *Aegilops taushii*, донора субгенома D м'якої пшениці (Tsunewaki, 1999).

Прояв ознаки воскова осуга у штучно створених геномно-заміщених амфідиплоїдних формах Авролата, Авродес, Аврозис та Авротіка, субгеноми A та B яких походять від сорту м'якої пшениці Аврора (геном AABBDD), а субгеном D заміщений геномом одного з диплоїдних видів – представників роду егілопс: *Aegilops umbellulata, Aegilops speltoides Aegilops sharonensis* та *Aegilops mutica*, відповідно (Жиров, 1984), виявляється дещо своєрідним. При створенні даних штучних форм усі рослини не мали воскової осуги і були зеленого кольору. Отже, домінантний ген *W2* був отриманий геномно-заміщеними формами у складі геному дикорослого родича. Пшениця є самозапильною рослиною, тому рослини наступних генерацій геномно-заміщених форм повинні були бути позбавленими осуги. На практиці, протягом 20 років серед нащадків амфідиплоїдів спостерігається поява рослин, які мають воскову осугу, тобто незрозумілим чином у згаданому матеріалі відбувається зміна стану алеля з домінантного у рецесивний і відповідно втрачається інгібіторна дія гена *W2*. Описаний феномен спостерігався також серед геномно-доданих форм пшениці, створених як амфідиплоїди від схрещування лінії *Triticum durum* і двох видів егілопсу – *Aegilops tauschii* та *Aegilops comosa* (Терновська, 1999).

Ознака наявність/відсутність воскової осуги має хорошу експресивність і фенотипна оцінка рослин завжди однозначна. Рослинний матеріал, який є за походженням штучними амфідиплоїдами та існує вже 30 років, а також інтрогресивні лінії, створені на основі їхніх геномів, є надзвичайно привабливою моделлю для вивчення внутрішньогеномних процесів, які відбуваються під час стабілізації гібридних геномів, з використанням ознаки морфології рослин і молекулярно-генетичних маркерів, придатних для виявлення хромосомних перебудов у геномі.

У даному повідомленні представлено результати гібридологічного аналізу геномно-заміщених форм Авродес (геномна формула AABBSS), Аврозис ($AABBS^lS^l$), Авролата

(AABBUU), Авротіка (AABBM^{t}M^t) та створених на їх основі інтрогресивних ліній м'якої пшениці, контрастних за ознакою воскова осуга. Також представлено характеристику інтрогресивних ліній пшениці щодо можливих перебудов, до яких залучена хромосома 2D або її гомеолог чужинного походження, з застосуванням мікросателітного аналізу.

За результатами гібридологічного аналізу, успадкування ознаки відбувається з порушеннями законів Менделя. Мікросателітний аналіз із праймерами до локусів хромосоми 2D, де розташований ген інтересу *W2,* не дає можливості пов'язати зміну у структурі хромосом зі зміною у прояві ознаки наявність/відсутність воскової осуги, проте вказує на наявність різниці у структурі хромосоми 2D пшениці різних інтрогресивних ліній.

Chebotar G.[1], Chebotar S.[1], Motsnyy I.[2], Khokhlov A.[2], Sivolap Y.[1]

PROTEIN CONTENT AND WKP OF ANALOGUE WHEAT LINES THAT DIFFERS BY ALLELES OF DWARFING AND *Ppd-D1* GENES

[1]South Plant Biotechnology Center UAAS, Ovidiopolskaya dor. 3, 65036 Odessa, Ukraine
[2]Plant Breeding and Genetic Institute UAAS, Ovidiopolskaya dor. 3, 65036 Odessa, Ukraine
sabina-chebotar@rambler.ru

Grain protein content is one of the main factors affecting end-use quality of wheat (*Triticum aestivum*) (Tabbita et al., 2010). One of the breeding problems is a strong inverse relationship between grain yield and protein concentration in it (Alzueta et al., 2010). So, many of the genes responsible for the grain yield and grain weight (Röder et al. 2007) of wheat would also influence grain protein content. According to the Gale and Youssefian (1985) a depression of protein levels has been observed as pleiotropic effect of *Rht2* (*Rht-D1b*) and *Rht8* (*Rht8c*) in winter wheats, and *Rht1* (*Rht-B1b*) in spring durum wheats. However, genes that increase grain protein without reducing grain yield, would be of more interest for wheat breeders attempting to improve both grain yield and protein concentration simultaneously (Feuillet, Muehlbauer, 2009). Allele *Ppd-D1a* makes shorter duration of the vegetative period that allows to avoid drought and high temperatures during the grain filling in the Ukraine south steppe conditions (Fedorova, 2004), and can lead to the accumulation of higher amounts of proteins.

In order to investigate possible effects of alleles of dwarfing and *Ppd-D1* genes on the protein content and weight of the kernels from plant (WKP) the bread wheat analogue-lines (Khangildin, 1990) genetically different in plant height were tested by PCR-analysis for *Rht8, Rht-B1, Rht-D1* and *Ppd-D1* genes and test for sensitivity to gibberellic acid (Chebotar et al., 2010 in press). The protein level was detected by NIR technique using Spectran 119M analyzer.

According to the estimated data (2009) lines Kooperatorka and Kooperatorka K-90 have higher protein content (10,52 and 10,74, accordingly) then their analogue Kooperatorka K-70 (8,72; P=0,05). Lines Odesskaya 3 (10,03) and Odesskaya 3 K-75 (10,75) contain nearly the same amount of protein, like Odesskaya 51 and Odesskaya 51 K-73 (11,49 and 10,03, accordingly) and lines Stepnyak (9,75) and Stepnyak 2K (10,19). The protein content for control lines were: 11,53 for Bezostaya 1; 10,83 for Karlik 1; 10,42 for Odesskaya semidwarf; 10,69 for Hostianum 237 and 11,57 for Albatros odesskiy. However data estimated in 2008 (by Bezlyudnyy V.N. on the NIR5000 (USA), unpublished) revealed no differences between lines, except higher protein content in Kooperatorka (14,27) than in it's analogue-lines (11,58 and 11,98 for Kooperatorka K-90 and Kooperatorka K-70, respectively).

The WKP parameter was analogous to the grain yield parameter in our research. There were no significant difference between Odesskaya 51 and Odesskaya 51 K-73; Stepnyak and Stepnyak 2K; Kooperatorka and Kooperatorka K-90; Kooperatorka K-90 and Kooperatorka K-70, Kooperatorka - Kooperatorka K-70 by WKP parameter. The significant differences were revealed between Odesskaya 3 - Odesskaya 3 K-75 (4,9; LSD=4,3).

The Odesskaya 3 is sensitive to photoperiod, has no dwarfing genes and no differences in protein content with analogue-line, but it's kernels have much bigger weight than kernels of Odesskaya 3 K-75. Although the protein content and WKP for lines Kooperatorka and Kooperatorka K-90 were

the same, but difference in the *Rht8c* and *Ppd-D1a* alleles leads to the decreasing of height in average 25 % without decreasing on protein and WKP parameters.

Banas A., Gabrys H., Kitlinska A.

PREPARATION OF GENETIC CONSTRUCT FOR *IN VIVO* VISUALISATION OF ACTIN POLYMERS IN PLANTS' CELLS

Department of Plant Biotechnology
Jagiellonian University in Krakow, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology
ul. Gronostajowa 7, 30-387 Krakow, Poland

It is important to visualise the *in vivo* structure of actin polymers and dynamic image of its rearangement. To achieve this, we planned to use gfp as a reporter gene [Takumi Higaki, 2007] and prepared a plasmid vector that can be used for subsequent plants' transient or stable transformation using *Agrobacterium tumefaciens*. We developed binary vector by inserting genetic construct into pGREENII 0229 plasmid by cleaving with restriction enzymes and sharp end ligation. The construct consists of two gfp genes and second domain (FABD2) of *Arabidopsis thaliana* fimbrin1 (AtFim1) under control of the CaMV 35S (Cauliflower Mosaic Virus) promoter (35S::GFP-FADB2-GFP). [Yuh-Shuh Wang, 2007] Fimbrin1 act as actin binding protein (ABP), so it will allow new protein to bind to actin polymers and to visualise it after excitation of GFP. [Takumi Higaki, 2007]

Broda Z., Janowicz J., Turczynowska A.

AFLP METHOD APPLICABILITY IN POLYMORPHISM ANALYSIS OF CLOSELY RELATED DOUBLED HAPLOIDS OF RAPESEED

Department of Genetics and Plant Breeding, Poznan University of Life Sciences
Wojska Polskiego 71c, Poznan, 60-637, Poland
anturczy@up.poznan.pl

In modern plant breeding doubled haploids are a good source leading to the development of new varieties and a useful tool in genetic research. The main factor which determines their application to scientific experiments and breeding is the easiness with which homozygous plants from initial hybrids can be obtained in the course of one generation. One of techniques of obtaining DH plants under *in vitro* conditions are anther and microspore cultures. However, doubled haploids obtained under *in vitro* conditions may reveal certain levels of polymorphism. It results from gametoclonal variation occurring among individuals regenerated from germ cells. Since such variation observed in DH lines is not desirable, it is important to identify and characterize potential levels of polymorphism.

The use of molecular markers provides a good solution in the genetic analysis of doubled haploids. They were applied in DH lines polymorphism study of potato [Rivard et al. 1989], white beet [Schmidt et al.1993], flax [Chen et al. 1998] and barley [Oleszczuk et al. 2002].

The aim of this paper is to assess AFLP method applicability to determining the level of polymorphism occurring among closely related doubled haploid lines of rapeseed (*Brassica napus ssp. oleifera*).

The plant material used in the study were 10 rapeseed (*Brassica napus ssp. oleifera*) DH lines, from which DNA was collected. Subsequently AFLP molecular analysis was conducted with the use of 2 restriction enzymes and 6 primer combinations. Products of amplification were separated by polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) and visualized using silver nitrate. The level of polymorphism for different DH lines was calculated by the comparison of band pattern obtained in PCR.

Among the tested DH lines polymorphic PCR products were observed.

AFLP method proved to be a useful tool in identifying polymorphism and analyzing highly homozygous plants due to the high resolution of PCR band pattern and repeatability of research results. Nevertheless, the analysis required large experience and an optimal primer set selection. Application of AFLP method to the analysis of the polymorphism level of rapeseed doubled haploid lines is highly effective.

Evtushenkov A., Gunina K., Kastrickaya M., Kudzina I., Kuharchik N., Lagonenko A., Seliazniova Y.

THE SUSCEPTIBILITY OF BELORUSSIAN APPLE CULTIVARS AND ROOTSTOCKS TO FIRE BLIGHT

Belarussian State University
Nezavisimosti str, 4, 220030, Minsk, Belarus
kuddya@gmail.com

Fire blight is one of the most damaging diseases in the world agriculture. Its causative agent is *Erwinia amylovora*. Outbreaks of this disease were registered in more than 40 countries. In 2007 fire blight was detected on the territory of the Republic of Belarus.

Fire blight strikes plant of the *Rosaceous* family. The most susceptible plants are pear and apple. Selection of resistant cultivars is the method of control of this disease. With this matter search of resistance cultivars and rootstocks occur.

In our study were inoculated 17 Belarusian apple cultivars and 8 rootstocks with the strain *Erwinia amylovora* E3. The development of fire blight was observed during ten days after inoculation. For the estimation the degree of cultivar susceptibility to the disease we use four point scales and on the tenth day we measured the total length of shoots and their necrotized parts. There are 3 apple varieties (Zaslavskoe, Charavnica, Alesya) and 2 (57-545 и M7) rootstocks which showed the highest degree of resistance to fire blight.

In the genome of several resistance plants were detected locus coding resistance to fire blight (QTL of resistance to fire blight). The major locus was identified in the linkage group 7 of apple cultivar “Fiesta” (Calenge F. et. al, 2005). In 2007 Khan M.A. and co-author have described molecular markers linked to the “Fiesta” linkage group 7 major QTL for fire blight resistance (F7) and several primers to these markers (Khan M.A. et al, 2007).

We have tested genomic DNA from Belarusian apple cultivars on the present F7 by PCR. 3 pares of primers were used with this matter: AE10-375, GE-8019, CH-F7-Fb1. If the products of reaction present for all 3 pares, F7 occurrences in the genome. Among studied varieties only 2 (Zaslavskoe and Charavnica) have showed occurrence QTL of resistance to fire blight. This results correlate with the result of artificial infected of apple cultigens performed in this study.

Fedorenko V., Ostash B., Tcipyk O., Yushchuk O.

OVEREXPRESSION AND INACTIVATION OF *sco*0823, THE PROBABLE REGULATORY GENE IN *STREPTOMYCES COELICOLOR*

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
ellesar.elven@gmail.com

The *sco*0823 gene belongs to the genome of *S.coelicolor* – the model object of actinomicetes genetics. This gene encodes transcriptional regulator of the GntR family. Also *sco*0823 is a part of one operon with ABC-transporter genes. Length of this gene is 440 b.p. so the encoded protein contains 146 aminoacids.

GntR family of transcriptional regulators was discovered in 1991 and named by first protein-member – gluconate operon repressor(*Haydon and Guest, 1991*). All proteins of this family possess highly conservative N-terminal DNA binding domain and C-terminal ligand binding domain, more various in structure. This diversity served as a base for further classification of GntR-family into subfamilies. GntR-regulators are prevalent in all bacterial taxa.

The SCO0823 protein belongs to YtrA subfamily (*Rigalli et al., 2009*). We, partially repeating the previous works, bioinformaticaly predicted the secondary structure of SCO0823 using *Predict-*

Protein webserver(*PredictProtein: B Rost, G Yachdav and J Liu (2004) The PredictProtein Server. Nucleic Acids Research 32(Web Server issue):W321-W326.*,http://www.predictprotein.org/). Secondary structure is very similar to such on YtrA, although the big difference in aminoacid composition. SCO0823 has many homologues in other species of *Streptomyces* genus, for example LndYR in *S. globisporus* (*Ostash et al., unpublished data*).

To elucidate the function of *sco*0823 we decided to overexpress and knockout this gene. Overexpression was obtained with the increasing of the *sco*0823 dose. Thus, we cloned our gene in pKC1139, the plasmid with a high copy number. Then newly constructed vector pKC1139SCO0823 was transferred into *S. coelicolor* M145, using transgeneric conjugation. Received strains with overexpression were grown on different media. Changes in morphology and development of this strains allow us to say that SCO0823 has certain repressing effect on actinorhodin synthesis, and this effect depends on medium content.

Also this gene was heterologicaly expressed in *S. globisporus,* producent of landomycin E. Here it also has a great impact on antibiotic synthesis. Strains with overexpression of *sco*0823 produce twice less antibiotic than wild type.

YtrA is the least investigated subfamily of GntR-regulators. In light of this further research on *sco*0823 and other homological genes looks very interesting. And the elucidation of functions of such genes is our key for understanding the mechanisms of bacterial regulatory processes.

Flaus A.[2], Legube G.[3], Seoighe C.[2], Surkont J.[1,2]

BIOINFORMATIC ANALYSIS OF HISTONE H2AX LOCALIZATION

[1]Jagiellonian University, Krakow, Poland
[2]National University of Ireland, Galway, Ireland
[3]Laboratoire de Biologie Molüculaire Eucaryote, Toulouse, France
jaroslaw.surkont@uj.edu.pl

Histone H2AX is one of the most important proteins responsible for DNA damage response, but the complete mechanism of its activity is still unknown. In our work we used bioinformatic approach to find out more about H2AX localization and its role in damage signalling. We used data from Affymetrix ChIP-chip experiments and publicly available databases for statistical analyzes. We have shown the distance of autocorrelation of H2AX localization and linkage between H2AX localization and genome features. Finally, we suggested an additional way of DNA damage response, which complements the mechanism involving the creation of the γH2AX marks.

There were two main objectives for this project. The first was to characterize H2AX distribution to determine if H2AX clustering occurs. The second was to search for correlations between H2AX localization on DNA and genome features.

H2AX localization values datasets for chromosome 1 and 6 of U2OS cell line were obtained from Affymetrix ChIP-chip experiments performed by Dr. Gaelle Legube (Toulouse). For each chromosome, experiments before and after inducing Double Strand Breaks using a restriction enzyme were collected. Gene start and stop coordinates for chromosome 1 and 6 were obtained from NCBI Map Viewer Build 36.3. Recombination rate datasets were taken from International HapMap Project on 25-06-2009. The analyses were custom written principally in Python and R.

H2AX nucleosome occupancy is independent of neighbours over moderate distances

We confirmed that H2AX localization values are distributed normally. The Pearson correlation coefficient for the data was then calculated as a function of point separation between histones to observe autocorrelation. Strong correlation between H2AX signal values were observed for probes within distances shorter than 600bp. This represents the length of DNA associated with approximately three nucleosomes.

H2AX may be clustered in large zones along chromosome

To calculate H2AX clustering, normal and randomized localization values were appropriately averaged afterwards the results were compared using Q-Q plots.

Similarities between unshuffled and shuffled data decrease as averaging window size increases. This implies clustering exists. Despite the strong correlation for very short distances it seems that long distance clustering occurs in H2AX distribution.

H2AX occupancy is weakly linked with gene density

Correlation between appropriately averaged data was calculated using the Pearson method. Weak correlation was found between H2AX localization and gene density. However, in some cases p-value is low, so correlation is weak but statistically significant.

H2AX occupancy is significantly linked to recombination rate

High, statistically significant positive correlation was found for H2AX localization versus recombination rate after induction of DSBs.

The analyses revealed strong correlation between H2AX localized within distances shorter than 600bp. Nevertheless, long distance clustering (in mega base range) occurs in the H2AX distribution.

We found weak correlation between H2AX localization and gene density but a strong, significant correlation with recombination rate after occurrence of DSB (weak before DSB). This may suggest that H2AX could be translocated to recombination hot spots as a consequence of DNA damage.

Gonchar M., Romanova M., Zakalskiy A., Zakalska O.

OVEREXPRESSION OF $(HIS)_6$-TAGGED HUMAN ARGINASE I IN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* AND ENZYME PURIFICATION USING NICKEL AFFINITY CHROMATOGRAPHY

Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskogo St, Lviv, 79005, Ukraine
Institute of Cell Biology NAS of Ukraine, Department of Analytical Biotechnology
14/16 Drahomanova St., Lviv, 79005, Ukraine
rom-ma@ukr.net

Some of actively proliferating cancer cells (*e.g.* many hepatocarcinomas, melanomas, carcinomas, including well-known cervical carcinoma HeLa, as well as some types of leukemia) are strongly dependent on exogenous arginine supply. Arginine deficiency causes antiproliferative effect *in vitro* and *in vivo* and often leads to the death of such cancer cells whereas normal cells move into a quiescent phase. For the treatment of some cancers, it is promising the use of specific enzymes that catalyze degradation of arginine.

Arginase (EC 3.5.3.1; L-arginine amidinohydrolase) is the main enzyme of the urea cycle that catalyses the hydrolysis of arginine to urea and ornithine.

The recombinant strain *Saccharomyces cerevisiae*, capable of overproducing human liver arginase, was constructed. The corresponding gene *HsARG1* was cloned using efficient copper inducible expression system. The active enzyme was accumulated in *S. cerevisiae* cells to the level of approx. 15 -30 $\mu mol \cdot min^{-1} \cdot mg^{-1}$ protein. The highest expression was obtained after 6-8 h of induction.

The $(His)_6$-tagged enzyme was purified from the cell-free extract of the recombinant strain by metal-affinity chromatography on Ni-NTA-agarose. The specific activity of the enzyme was increased more than 70-fold to approx. 600-2000 $\mu mol \cdot min^{-1} \cdot mg^{-1}$ protein. The yield of the enzyme after Ni-affinity chromatography was approximately 80%. The final yield of arginase protein was ~ 4 mg/L culture. The obtained enzyme preparations are almost homogeneous.

For the first time, $(His)_6$-tagged form of human arginase I was overexpressed in *S. cerevisiae* cells under the control of *CUP1* promotor. It was shown that $(His)_6$-tag joined to the N-terminus

does not disturb the arginase enzymatic activity, but allows easy purification procedure by Nickel-chelating chromatography on Ni-NTA-agarose.

Janowicz J., Turczynowska A., Wojciechowski A.

DOUBLED HAPLOID PRODUCTION IN FLAX (*LINUM USITATISSIMUM* L.)

Department of Genetics and Plant Breeding, Poznan University of Life Sciences
Wojska Polskiego 71c, Poznan, 60-625, Poland
jowita6@interia.pl

The use of haploids became very significant tool for supporting classical methods of plant breeding, which enable obtaining valuable plant material. Such material is hardly obtainable in *in vivo* conditions. Application of haploids provides homozygous genotypes from heterozygous material within only one generation [Szarejko 1997]. Flax (*Linum usitatissimum* L.) is one of over three hundred species, among which conducting the regeneration process became possible. As far as this species is concerned, haploid and doubled haploid (DH) production methods are desirable in breeding the new cultivars [Andruszewska 2006]. Although the first haploid plants of *Linum* derived from polyembryony, the most efficient method for doubled haploid lines production is still the androgenesis. Anther culture shortens the obtaining time of homozygous lines, what makes this method commonly applied in flax breeding, albeit the amount of plants regenerated depends strictly on genotype and culture conditions. Since some plants obtained from anther culture may have their source not from androgenesis but anther somatic cells, some tests regarding isolated microspore culture application were carried out, however due to complicated procedure are not used on large scale. Moreover, the gynogenesis might be source for *Linum* haploid plants, which however appears to be significantly less effective than androgenesis [Obert B. et. al. 2009]. In present study, the results concerning doubled haploids production, their application in new flax cultivars breeding and factors limiting high plant regeneration efficacy, are presented.

Kasa O., Yushkova E.

INFLUENCE OF IRRADIATION IN SMALL DOSES ON MUTANT OF STRAINS *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Establishment of the Russian Academy of Sciences Institute of Biology of Komi Science Centre Ural Division of the Russian Academy of Science
Kommunicticheskaya st., 28, Syktyvkar, 167982, Russia
ushkova@ib.komisc.ru

Genes of *rad54*, *mei-41* and *mus210* take to group of genes of Drosophila regulating resistance of organisms to action of factors radiative of nature. Their mutations induce increased of radiosensitivity of developing individual that can be result in defects of DNA repair in somatic of cells.

Our experimental data shows that the irradiation in small doses (2.7—8.1 sGy) result in increase ($p < 0.01$) of level of dominant lethal mutations in strains with the mutations of genes *rad54* и *mei-41. In accord of method "Comet assay" be found that change of number of cells with double-strand breaks DNA this is not monotonous, i.e. be have doses irradiation by that frequency of cytogenesis damages in principle in differ. Essential, that ambiguity of response on influence of irradiation low intensity depend on genotype. In strain mus210* with defect of excision repair nucleotides after irradiation at dose 5.3 sGy level double-strand breaks DNA lower of control level. From increase of dose ionizing radiation frequency of double-strand breaks DNA significant exceed control level.

Observed effects of irradiation in range small doses are explained characteristics of investigated genes to differ of ways repair. Gen *mei-41* control in cellular cycle transfer G_2/M and double-strand breaks repair by mechanisms annealing single-stranded DNA. *Rad54* regulate double-strand

breaks repair by way interchromosomal recombination and have checkpoint function between S/G2 phases of cellular cycle. Product of gene *mus210* takes part in excision repair.

Thus, show to important of role repair of double-strand breaks DNA and control of cellular cycle in forming of radiobiological effects of Drosophila.

Kiselev D[1,2]., Smirnov O.[2]

STUDYING OF PHYLOGENETIC MUTUAL RELATIONS BETWEEN THE APPLE CULTIVARS

[1]Institute of Horticulture National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
Sadova St. 6, Kyiv, 03041, Ukraine
[2]National University of Life and Environmental Science of Ukraine
Heroyiv Oborony 15, Kyiv, 03041, Ukraine
joi.smirnov@mail.ru

The genus *Malus* (X = 17) belongs to the subfamily Pomoedeae of the Rosaceae. Historically, apple has been cultivated since 4000 BC. The primary centre of *Malus* is within the region of Asia Minor, the Caucasus, Central Asia, Himalayan India, Pakistan and Western China. The Old Silk Road from the Black Sea to Western China played an important role in the revolution of the cultivated apple. The genus *Malus* is characterized by a large diversity resulted from accumulation of somatic mutations and fostered by human activities during the long history of the cultivation of apples. The assessment of the level of diversity is necessary to help make informed decision on management procedures as well as on the choice of breeding strategies to use in combining horticultural important traits in breeding programs. Moreover, there are markers in apple available for the selection of agronomic and fruit quality traits.

The apple prevails through cultivated fruit trees in the world. According to the Food and Agriculture Organization of the United Nations, the total apple production in 2009 was about 61 million tons, and the overall area of apple plantation was 5.62 million hectares (www.fao.org). Cultivated apple trees are subject to abiotic and biotic stresses (diseases and vermin), which annually reduce the harvest by 12 to 25%. The wild apple species carrying genes responsible for resistance to these stressful agents and are widely used as original material to develop new varieties.

Studying of phylogenetic interrelations between the apple cultivars (*Malus domestica* Borch) for the purpose of their selection as parental forms for breeding and genetic work with an apple was a problem of this research. One of the selection criteria of parental forms for crossings is the factor of genetic distance between them. The higher this factor, the higher level of vegetative heterosis at seedling.

As an initial material, there were used six apple cultivars of the Ukrainian breeding - Katerina, Vnuchka, Skifskoe zoloto, Teremok, Askolda, and Edera and five foreign breeding - Jonagold, Enterprise, Red chif, Red Elstar, and Fuji.

A set of RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) primers has been analyzed, there were selected some of them, and interhigh-quality polymorphism has been shown. On the basis of these data, genetic distances have been calculated by the Neis algorithm. This indicator was considered as a measure of a genetic variety between investigated genotypes.

Factors of genetic distances are from 0.1603 to 0.7309 that testifies to a wide genetic variety between investigated cultivars. On the factors of genetic distances, the cluster analysis was conducted and the dendrogram of phylogenetic interrelations was constructed. It consists of two clusters.

As a result of cluster analysis, 11 cultivars of apple were divided into two groups. In turn, the first cluster is divided into two subclusters. The first subcluster includes the following cultivars – Jonagold, Edera and Katerina. In the second subcluster includes cultivars of apple - Enterprise, Red

chif, Red Elstar, Vnuchka, Skifskoe zoloto and Teremok. The second cluster contains two varieties of apple – Askolda and Fuji.

The Neis genetic distance between the two clusters at a level 0.7309. This indicated the wide genetic diversity of cultivars of species *Malus domestica*.

It can be concluded that the selected primers can be isspolzovat to determine the phylogenetic relationships between other members of the species *Malus domestica*.

ЕКОЛОГІЯ / ECOLOGY

Keivan M., Tertychna O.

USAGE OF BIOINDICATOR METHODS TO ASSESS THE IMPACT ON THE ENVIRONMENT FROM POULTRY FACTORY

Institute of agroecology UAAS,
Metrologichna St., 12, Kyiv, 03143, Ukraine
marykeyvan@rambler.ru

Today the production of poultry products in Ukraine is developing very intensively. Solving environmental problems in the conduct of poultry (air pollution, ground waters, soil) require an environmentally safe and economically viable approach. Studying the impact of the poultry business on the environment and its environmental assessment a wide arsenal of chemical, analytical, microbiological, health and hygiene practices are used. We have proposed systematic approaches using bioindicators. These techniques are informative, easy to use, and by the reaction of test objects can not only draw conclusions about the impact on the environment, but also to anticipate changes in the state of the environment.

To assess the impact on the aviculture state of air monitoring in the agrobioresources laboratory of the Institute of Agroecology NAANU started studying pollen sterility of plants, determining the percentage of mature seed pods plant Robsínia pseudoacácia, complex morphological features of the European pine Pinus selvestris L. Usage of Drosophila melanogaster L. is proposed to indicate air pollution by harmful gases.

Aviculture anthropogenic impact is manifested in violation of the fitobioty and entomofauny biodiversity. Therefore, we studied entomofauny farms biodiversity in the area located in the Kiev region. For environmental entomofauny assessment we used ecological indices. Thus, the study of anthropogenic load in the conduct of poultry is an important environmental challenge of our time, requiring an integrated scientific approach to its solution. Methods of bioindicators are to quickly evaluate the degree of this influence, analyze the violation of fitobioty and entomofauny, to predict the consequences of poultry to the environment in the future.

Rostama S., Boshkov A., Goltvyansky A.

USING MICROALGAE *DUNALIELLA VIRIDIS* AS BIOINDICATORS OF HEAVY METALS IONS

Research Institute of Biology, Kharkov Karazin National University,
4, Svobody pl., Kharkov, 61077, Ukraine
srostama@yahoo.com

It is known that cells of microalgae *Dunaliella viridis* can adapt themselves to changes of concentration of salts in the medium (Azachi et al., 2002; Katz et al., 2007), temperature drop (Dunalielal,1992; Cedova 2003) and various concentrations of copper ions (Boshkov, Goltvyansky, 2000). It is established that *Dunaliella viridis* cells are capable of forming cellular aggregations when entering into the culture medium of such specific components as cytotoxic factors of blood serum of patients with *Myasthenia gravis*.

Clearly, the formation of cell aggregates may occur due to different mechanisms. Further studies are required to understand not only the mechanisms of formation of cellular aggregates, but also the factors that their formation depends on.

The main aim of the current research is to clarify the interrelation of the initial functional state of culture and its tendency for aggregation. In this regard, the time of formation and disintegration of *Dunaliella viridis* cellular aggregates when entering into the culture containing high concentrated copper sulfate (20 and 50 mg/l) in the standard medium, and their resistance against copper ions

cultures are identified. Dynamics of formation of cell aggregates in cultures of *Dunaliella viridis* Teod., which are sensitive (CuS) and resistant (CuR) to copper ions, has been investigated after entering into the medium of 20 and 50 mg/l $CuSO_4 \cdot H_2O$.

It was observed that right after introduction of copper sulfate in the medium, the cells lost their mobility, changed their shapes and aggregated. The manifestation of these changes depends on the functional state of the cultures. Thus, in the CuR *D. viridis* culture, which was shown to be resistant to the copper ions, the mobility and membrane integrity of cells were restored quickly; however cellular aggregates disintegrated into separate cells. To conclude, loss of mobility, cell aggregations and infringement of the plasmalemma are temporary for most of the cells. The (CuR) *D. viridis* restore their morphofunctional characteristics in much greater extent, compared to the (CuS) *D. viridis*. It was also established that the formation of cellular aggregates is the primary reaction of *D. viridis* with a high concentration of copper ions in the culture, in comparison with (CuS) *D. viridis*.

Wojciechowska K., Kozik E.

ECOLOGICAL ASPECTS OF USING CHELATED AND INORGANIC IRON FERTILIZERS

Department of Horticultural Plant Fertilization, University of Life Sciences in Poznan, Poland
ul. Zgorzelecka 4, 60-198 Poznan, Poland
e_wojciechowska@yahoo.com

Micronutrients are essentional for correct plant development. Many enzymatic reactions depend on metal ions such as Fe, Cu, Mn, Zn, Mo. Availability of metal ions in soil is depended on many factors for example: soil humidity, soil temperature, pH, presence and quantity of others nutritional elements, etc. Iron is immobilized especially when pH is higher than range of 7,5-8,5 (this is a common effect in micronutrient uptake excluding Mo).

Many authors indicate that iron chlorosis is disordered due to low Fe in the soil solution. Plants that particularly suffer from Fe deficiency – *Lactuca*, *Spinacia, Lycopersicon, Phaseolus*, *Petunia, Hamamelis, Rhododendron, Jasminum* and fruit trees like peach, pear, citrus, kiwifruit. Scientist claims that iron deficiency impairs chlorophyll biosynthesis and chloroplast development in plants. Therefore, Fe availability is directly correlated with plant productivity. Chlorosis due to the unavailability of Fe in calcareous soils with high pH is a major agricultural problem that results in reduced crop yields in ≈30% of cultivated soils worldwide.

Fertilizers are widely used but in many cases the inorganic ones are not efficient enough. The use of chelates is the most common and efficient agricultural practice to treat Fe chlorosis and other micronutrient deficiencies. Syntetic chelates are able to maintain Fe in the soil solution or in the hydroponic cultivation and transport it to the plant root. Commercial Fe-chelat fertilizers are complex of Fe and chelating agent such as EDTA-ethylene diamine tetra acetic acid, DTPA-diethylene triamine pentaacetic acid, HEDTA-diethylene triamine pentaacetic acid, EDDHA-ethylenediamine-N,N'-bis (2 hydroxyphenylacetic acid), EDDHMA-(methyl derivative), IDHA-N-(1,2-dicarboxyethyl)-D-L-aspartic acid or mixed for example EDTA+DTPA. Great majority of chelating agents is non-biodegradable. Chelating agents are an environmental concern becouse of their persistence and strong metal chelation. The presence of chelating agents in high concentration has the potential to remobilize heavy metals. Many authors indicate that EDTA one of widely used chelating agent is ubiquitous in environment (soil, ground water, surfaces waters) because of its resistance. The product is marketed worldwide and its use in the world is common (chemical, cosmetic, photographic, fertilizer and paper industry).

Alternative way for micronutrients chelation could be use of MGDA, IDHA and [S,S]-EDDS. These chelating agents are biodegradable so its use as Fe fertilizer could be a more environmentally friendly choice than other synthetic chelates.

Authors assay to present extensive literature on the mechanism of iron chlorosis, its remediation and fate of chelating agents in environment.

Zawadzka K., Gniazdowski J.

RENEWABLE ENERGY SOURCES – ZBĄSZYNEK BOROUGH

University of Zielona Góra
Prof. Szafrana 1,65-516 Zielona Góra, Polska
kingazawadzka@wp.pl, j.gniazdowski@sdb.uz.zgora.pl

The environmental effluents are increasing, many species plants and animals are disappearing, civilization diseases are in progress, reserve of conventional energy sources are decreasing – that are reasons why people pay attention to condition our planet. More and more people use the renewable energy sources to production energy.

Government of Poland and Polish Parliament resolved document „ The Energetic Development Strategy". Authorities of Poland assume that till 2020 – 14% energy sources will be renewable energy sources. Renewable energy sources include: solar energy, wind power, hydropower, geothermal energy, biomass, biogas.

Scientists value technical potential of the renewable energy sources in Poland to 2514PJ. This potential can be used to production energy with suitable technology. Potential particular sources renewable energy look: solar energy 1340PJ, wind power 36PJ, geothermal energy 200PJ, biomass 895PJ. Potential from the renewable energy sources can coincide 60% energetic demand per year in Poland.

Potential of the solar energy for Zbąszynek borough amount to 983kWh/m^2 per year. From April to September it is 785kWh/m^2. Meteorological and Hydrological Institute measure wind speed for Zbąszynek borough – 5m/s. Potential of the wind power for this borough is 1250kWh/year/m^2. Biomass come from 'energetic plants'(for example *Salix viminalis, Sida hermafrodyta, Helianthus tuberosus*) and wood. Energetic potential of the *Salix viminalis* for Zbaszynek borough amount to 32,35GWh/year. Energetic potential of the wooden waste – it is 37GWh/year. Biogas come from refuse dump, waste dump, animal husbandry, sewage treatment plant. Refuse dump and animal husbandry don't exist on the area Zbąszynek borough. Potential from sewage treatment sludge amount to 2343MWh/year.

Білозуб О.

ХАРАКТЕРИСТИКА КАТІОННООБМІННОЇ ЗДАТНОСТІ ГРУНТІВ ШТУЧНИХ БІОГЕОЦЕНОЗІВ ПРИСАМАРСЬКОГО МОНІТОРИНГОВОГО СТАЦІОНАРУ

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара
пр.Гагаріна, 72, м. Дніпропетровськ, 49010, Україна

Дана робота присвячена визначенню поглинальної здатності грунтів едафотопів штучних біогеоценозів Присамарського моніторингового стаціонару.

Об'єктом дослідження є 2 пробних площі Присамарського стаціонару.

Мета роботи полягає у порівняльній характеристиці катіоннообмінної здатності ґрунтів білоакацієвої лісосмуги (з чагарниковим підліском) на плакорі (п.п. 201, а) та білоакацієвої лісосмуги (без чагарникового підліску) верхньої частини пристіну

(п.п. 201, б). Катіоннообмінну здатність грунтів визначали за загальноприйнятими методиками (Арінушкіна Є.В.,1970).

Аналізувались: чорнозем звичайний лісопокращений (п.п. 201, а), чорнозем звичайний (п.п. 201, б).

Дослідження показали, що показник ємності поглинання грунту чорнозему лісопокращеного становить 37,67 мг-екв на 100 г грунту.

Максимальний вміст кальцію спостерігається у поверхневому горизонті 30,82 мг-екв на 100 г грунту, який рівномірно знижується вниз по профілю до 3,71 мг-екв на 100 г грунту.

Друге місце серед поглинутих основ займає магній, його вміст коливається від 1,10 мг-екв на 100 г грунту – у поверхневому горизонті поступово підвищується до 1,25 мг-екв на 100 г грунту – в нижньому.

Максимальний вміст натрію зафіксований у поверхневому горизонті і становить 0,04 мг-екв на 100 г грунту, а мінімальний – 0,03 мг-екв на 100 г грунту, властивий усім нижчерозташованим горизонтам. Вміст калію коливається від 0,05 мг-екв на 100 г грунту - на глибині 40 -50 см до 0,21 мг-екв на 100 г на глибині 10-20 см. Розподіл по профілю нерівномірний.

Ступінь насиченості грунту основами в середньому по профілю становить 93,05%.

Показник ємності поглинання грунту чорнозему звичайного становить 30,82 мг-екв. Максимальний вміст кальцію зафіксований на глибині 20-30 см і становить 19,00 мг-екв на 100 г грунту. Мінімальний вміст кальцію зафіксований у поверхневому горизонті – 14,77 мг-екв на 100 г грунту. У нижніх горизонтах показник дещо нижчий, порівняно із максимальним значенням. Магній займає друге місце серед поглинутих основ, його вміст коливається від 1,16 мг-екв на 100 г грунту – на глибині 20-30 см, до 1,06 мг-екв на 100 г грунту – на глибині 30-40 см. Розподіл по профілю нерівномірний.

Максимальний вміст натрію зафіксований на глибині 30-40 см і становить 0,04 мг-екв на 100 г грунту, а мінімальний – 0,01 мг-екв на 100 г грунту – на глибині 10-30 см. Розподіл по профілю нерівномірний. Вміст калію коливається від 0,09 мг-екв на 100 г грунту –на глибині 40-50 см до 0,26 мг-екв на 100 г грунту у поверхневому горизонті. З глибиною вміст калію знижується.

Ступінь насиченості грунту основами в середньому по профілю становить 96,35%.

Дослідження показали, що під впливом штучних насаджень в умовах степу покращується катіоннообмінна здатність грунтів. Величина ємності поглинання і вміст кальцію збільшується. Чорноземні грунти, при поселенні на них деревних порід, набувають рис лісопокращених. Найбільш сприятливими для використання у степовій зоні є штучні насадження із чагарниковим підліском.

Результати досліджень можуть бути застосовані у практиці лісового господарства при реконструкції природних і створенні штучних лісів в умовах степу.

Бура А., Головей О.

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЗКЛАДУ РІЗНИХ ВИДІВ ПОБУТОВОГО СМІТТЯ ЗА ДОПОМОГОЮ МІКРООРГАНІЗМІВ

Дніпродзержинський державний технічний університет
м. Дніпродзержинськ, вул. Дніпробудівська, 2 51918,Україна
lamber@bk.ru

Утилізація побутового сміття є однією із найскладніших проблем. В Україні накопичено близько 25 млрд т промислового та 5 млрд м^3 твердого побутового сміття (за масою це близько 1 млрд т) – тобто близько 500 кг на одного мешканця України. Під ними поховано близько 200 тис. га українських земель [Краснянский М.Е., 2007].

У зв'язку з присутністю у біосфері стійких забруднювачів антропогенного походження в перевищуючих природну самоочисну здатність масштабах руйнуюча дія мікроорганізмів придбала в останні десятиріччя значну актуальність. Сьогодні актуальними є проблеми розробки і використання штамів мікроорганізмів-деструкторів екотоксикантів, питання біодеградації різноманітних видів сміття безпосередньо в природних біоценозах і створення промислових технологій, що дозволяють очищати природні ландшафти від техногенних забруднень. Дослідження хімічного складу вмісту смітників показали, що фракція, яка піддається біодеградації, становить до 70% загальної кількості твердих відходів [Волова Т.Г., 1999].

У середині 60-х років минулого століття були відкриті мікроорганізми ґрунту, які мають здатність до деградації ксенобіотиків – гербіцидів, пестицидів, хладагентів, розчинників, засобів побутової хімії, ліків та ін. Це відкриття підтвердило вірність припущення щодо того, що мікроорганізми можна використовувати для економічного і ефективного руйнування, деградації токсичних хімічних відходів [Б. Глик, Дж. Пастернак, 2002]. Активну участь у біодеградації різних видів сміття та ксенобіотиків беруть бактерії та гриби, основна кількість яких виділена з ґрунту і води.

Під час дослідницької роботи були вивчені умови біодеградації деяких видів побутового сміття (лушпиння цибулі, синтетична тканина, вата, обгортка від цукерки, пакувальний матеріал, папір). Як середовище використовували біологічно-активний ґрунт, що складається з ґрунтово-торф'яної суміші, соломи та мінеральних добавок, які підвищують активність мікроорганізмів. При розкладанні органічної фракції побутових відходів в експериментальному реакторі отриманий біогаз і незброджений залишок. Проведено ідентифікацію мікроорганізмів і виявлено, що якісний склад мікроорганізмів біологічно-активного ґрунту: мікобактерії, актиноміцети, проактиноміцети, бактерії родів *Micrococcus, Sarcina, Pseudomonas, Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Bacillus*, дріжджі, незбродженого залишку: бактерії родів *Micrococcus, Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, диплококи, стафілококи, дріжджі.

Також було перевірено факт зменшення ваги різних видів полімерного сміття за допомогою мікроорганізмів ґрунту і виявлено, що вони втратили у середньому близько 10% ваги за чотири тижні.

Аналіз одержаних даних дає змогу запропонувати покращення способу утилізації твердих побутових відходів. Використання ґрунту із мінеральними добавками при утилізації відходів змогло б вирішити цілий ряд проблем, таких як отримання великої кількості вуглеводів та очищення середовища, особливо від побутового сміття, від викидів сільського господарства, виробництва паперової та текстильної промисловості, а отриманий біогаз можна використовувати для забезпечення енергетичних потреб міст і селищ.

Отже, кількість існуючих відходів і тих, що утворюються, можна значно скоротити. Для цього необхідне подальше вивчення процесів, які відбуваються стихійно при взаємодії сміття з оточуючим середовищем. Адже сучасна стратегія у розвитку екологічних проблем, пов'язаних із забрудненням землі, полягає у відновленні господарської діяльності на забруднених територіях, а не в безперервному освоєнні нових чистих територій.

Волинський Д.

ОТРУЙНІ ГРИБИ ЗЕЛЕНОЇ ЗОНИ МІСТА ІВАНО-ФРАНКІВСЬКА, ЇХ ВИДОВА РІЗНОМАНІТНІСТЬ

Івано-Франківський національний медичний університет
вул. Галицька, 2, м. Івано-Франківськ, 76018, Україна

Ліси України щороку дають велику кількість їстівних грибів. Найпоширенішими вони є на Поліссі та Прикарпатті. Гриби завжди приваблювали людей. При правильному збиранні та використанні грибів людина одержує цінний продукт харчування, багатий на білки, вітаміни, вуглеводи, мінеральні солі, мікроелементи, жири, екстрактивні й ароматичні речовини. Недотримання елементарних правил збирання, зберігання, сушіння та використання призводить до отруєнь. Гриби - група гетеротрофних організмів, які не містять хлорофілу.

Їх об'єднують в окрему систематичну групу - царство. Гриби-це одноклітинні та багатоклітинні організми, основне значення яких у природі полягає в руйнуванні й мінералізації органічних сполук.

Отруйні гриби – сукупність кількох видів представників царства Гриби (*Fungi*), споживання яких спричинює госпіталізацію людей, а подекуди і смерть. Метою дослідження було вивчення видової різноманітності отруйних грибів, механізму їх впливу на організм людини. Об'єктом дослідження були отруйні гриби поширені, на території зеленої зони міста Івано-Франківська. У процесі дослідження встановлено, що найпоширенішими представниками отруйних грибів в районі зеленої зони обласного центру є наступні : *Amanita phalloides* (Бліда поганка) *Hypholoma fasciculare* (Опеньок несправжній сірчано-жовтий), *Amanita muscaria* (Мухомор червоний), *Amanita pantherina* (Мухомор пантерний), які найчастіше трапляються у листяних лісах поблизу міста Івано-Франківська. Найсприятливішими для розвитку грибів є добре зволожені, частково затінені місця поблизу дерев, посеред кущів.

Залежно від клінічних проявів отруєнь, зумовлених системно-органною тропністю грибних токсинів, виявлені отруйні гриби належать до трьох груп Гастроентеротропні (Опеньки

несправжні цегляно-червоні – *Hypholoma Sublateritium,* Опеньки несправжні сірчано-жовті – *Hypholoma fasciculare*, Рядовка отруйна тигриста – *Tricholoma pardinum*, Ентолома отруйна – *Entoloma sinuatum*), нейротропні Мухомор пантерний – *Amanita pantherina,* Мухомор червоний – *Amanita muscaria*), гепатонефротропні Строчок звичайний – *Gyromitra esculent*, Бліда поганка – *Amanita phalloides*). Встановлено, що на період 2006-2009 рр., за даними обласної санітарно-епідеміологічної станції, зареєстровано 47 офіційних випадків отруєння грибами, 4 з яких закінчилися смертю людей.

Аналіз випадків отруєнь грибами в зеленій зоні міста Івано-Франківська свідчить, що більшість отруєнь зумовлені вживанням пластинчастих отруйних грибів (насамперед, Блідої поганки), які помилково сприймаються за їстівні печериці та сироїжки.

Отримані дані та подальші дослідження дадутьзмогу запобігти отруєнню грибами населення міста Івано-Франківська й інших населених пунктів.

Горон М.[1], Джура Н. [1], Романюк О.[2], Терек О.[1]

ФІТООЦІНКА ТОКСИЧНОСТІ НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ

[1]Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
[2] Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії
і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України
вул. Наукова 3[a], м. Львів, Україна
Gjurana@ukr.net

Одним із видів забруднення, що чинить тривалий стресовий вплив на довкілля, є нафта. Для отримання інформації про стан нафтозабруднених ландшафтів необхідне ведення моніторингу нафтогазового комплексу та супутнього забруднення ґрунтів (Самсонов и др., 2007). Об'єктивна та своєчасна інформація формує правильне розуміння проблеми та є основою для прийняття ефективних управлінських рішень щодо покращення стану довкілля.

Важливою складовою екологічного моніторингу є біомоніторинг, який використовує методи біоіндикації та біотестуванння. Ці методи доповнюють результати фізико-хімічного аналізу, які надають детальну інформацію про концентрацію полютанта, проте, потенційні впливи на екосистеми не можуть бути передбачені, використовуючи тільки дані концентрації. У біотестуванні основним критерієм оцінки забруднення виступає не концентрація полютанта, а тест-реакція та відповідь живого організму.

Ми працюємо над розробкою експрес-методу оцінки токсичності нафтозабрудненого ґрунту за допомогою рослин. У дослідженнях як тест-об'єкт використовували льон звичайний (*Linum usitatissimum* L.). Метою роботи була фітооцінка токсичності нафтозабруднених ґрунтів за чутливими тест-реакціями проростків *L. usitatissimum*. Насіння льону пророщували у чашках Петрі, в термостаті (t 24°C), на зволоженому (75%) ґрунті, забрудненому нафтою у концентрації 1, 2,5, 5, 10, 15, 20% протягом 6 діб. Фітооцінку токсичності нафтозабрудненого ґрунту проводили на основі енергії проростання насіння, індексу проростання, морфометричних показників проростків льону.

Нами встановлено, що нафта впливає на процес проростання насіння *L. sitatissimum*, змінюючи його швидкість: при низьких і середніх концентраціях (1-5%) проростання насіння пришвидшується порівняно з контролем, а при вищих ─ гальмується. При низькому ступені забруднення на 3-тю добу пророщування спостерігали стимулювання процесу проростання насіння *L. sitatissimum* – збільшення енергії проростання у індексу схожості. Проте зі зростанням вмісту нафти у ґрунті (5-20%) досліджувані параметри (індекс схожості, індекс кореня та індекс пагона) поступово зменшувалися. Це можна пояснити здатністю насіння адсорбувати нафту, яка змінює метаболічні реакції, у результаті чого насінина не проростає (Baker, 1970). Пригнічення росту кореня зумовлене токсичністю нафти, яка через водний розчин взаємодіє з проростками.

Отже, досліджувані тест-реакції льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.) доцільно використовувати при фітооцінці токсичності нафтозабрудненого ґрунту, оскільки дані показники є чутливими до нафтового забруднення та відображають лінійну залежність „концентрація -ефект”. На їх основі можна розробляти методичні рекомендації для фітоіндикації нафтозабруднених територій.

Ковальчук О., Кунда-Пронь І., Клепач Г.

ВПЛИВ ҐРУНТОВИХ ВОД ВІДВАЛІВ БОРИСЛАВСЬКОГО ОЗОКЕРИТОВОГО РОДОВИЩА НА *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка,
вул. В. Івасюка, 11, Трускавець, 82200, Україна
pavlishko@yahoo.com

Бориславське озокеритове родовище безпосередньо прилягає до історично створеного центру міста, лежить у регіоні Трускавецько-Східницької курортної зони та національного парку Сколівські Бескиди. Внаслідок довготривалого озокеритовидобутку (з 1855 по 1997 р.) сформувався нерівний горбистий рельєф на площі 20 га з різними екотопічними відмінностями фізико-хімічних, трофічних, гідрологічних показників субстрату рельєфних утворень, які є складними для біологічного освоєння. Значний негативний вплив від розробки й експлуатації родовища позначився на всіх прилеглих екологічних системах (Гвоздецька, 2005). У результаті проведеного хімічного аналізу Бориславською санітарно-епідемічною станцією зафіксовано підвищений вміст солей важких металів у ґрунтах відвалів в районі озокеритової шахти (Тагаєв, 2003), що веде до формування зон підвищеної екологічної небезпеки (Мариненко, 2007). На даний час проблема утилізації та рекультивації відвалів озокеритового родовища мало досліджена, як і його вплив на живі організми.

Метою нашої роботи є вивчення впливу ґрунтових вод відвалів Бориславського озокеритового родовища на організми за використання у ролі тест-системи лінії дикого типу *Drosophila melanogaster Oregon R*. Ґрунтові води Бориславського озокеритового родовища відбирали безпосередньо на території відвалів у вересні 2009 року. Нами проаналізовано вплив природних ґрунтових вод на розвиток, на частоту виникнення летальних мутацій, зчеплених із Х-хромосомою та частоту домінантних летальних мутацій у *D. melanogaster*. Статистичну обробку даних проводили за допомогою методу $ч^2$. Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних визначали коефіцієнт Стьюдента.

Мутагенну активність і токсичність природних ґрунтових вод визначали стандартним методом порівнянь. Нащадки першого і наступного поколінь аналізували за фенотиповими і поведінковими характеристиками. Частоту виникнення летальних мутацій, зчеплених із Х-хромосомою, визначали за відношенням кількості самців до самок у кожному поколінні. Частоту домінантних летальних мутацій (у %) визначали як відношення кількості яєць з ембріональною загибеллю до всіх відкладених запліднених яєць у яйцекладці.

При аналізі трьох поколінь *D. melanogaster*, вирощених на середовищі з ґрунтовими водами озокеритових відвалів, видимих мутацій не спостерігалося, проте вихід мух на дослідному середовищі відбувався на 7‑10 днів пізніше, до того ж вони були значно менші за розмірами (2‑2,5 мм) порівняно з нормою (3 мм) та характеризувалися зниженою локомоторною активністю. Це дозоляє зробити припущення про можливий токсичний вплив на розвиток дрозофіли. При вивченні впливу ґрунтових вод на виникнення летальних Х-зчеплених мутацій у *D. melanogaster* не було відзначено статистично достовірного відхилення від контрольного варіанта. За результатами тесту на домінантні летальні мутації (ДЛМ) було встановлено, що частота ДЛМ у дослідних пробах є вищою серед нащадків першого покоління у 2,18 разу, серед нащадків другого покоління – в 1,43 разу, серед нащадків третього покоління – у 2,31 разу порівняно з контролем, що свідчить про слабкий мутагенний ефект природних ґрунтових вод Бориславського озокеритового родовища на *D. melanogaster* з достовірністю $p<0,05$.

Отже, отримані попередні результати по вивченню впливу ґрунтових вод Бориславського озокеритового родовища на розвиток *D. melanogaster* засвідчили їхній слабкий мутагенний і токсичний ефект.

Качинська В.

ДЕЯКІ ОСОБЛИВОСТІ ОРГАНІЗАЦІЇ МІКРОБОЦЕНОЗІВ У КОНСОРЦІЯХ ULMUS І POPULUS ПРОМИСЛОВИХ ДІЛЯНОК КРИВБАСУ

Криворізький державний педагогічний університет, пр. Гагаріна 54, м. Кривий Ріг, 50086 Україна
Kachinskaya82@yandex.ru

Раціональне використання зелених насаджень повинно базуватися на знанні про функціонування консорційних екосистем. У межах фітогенного поля детермінантів консорцій підстилка і грунт розглядаються як важливі ланки у низці зв'язків між детермінантом консорції та різноманітними групами організмів (консортів). Процеси деструкції і гуміфікації є одними із найважливіших процесів, що забезпечують біогеохімічний кругообіг речовин у консорційній екосистемі та визначають її подальше функціонування. Вони відбуваються завдяки взаємодії між первинними деструкторами (безхребетні) та вторинними деструкторами (мікроорганізми). При цьому відомості про кількісний облік мікроорганізмів у підстилці та ґрунті характеризують темпи мінералізації органічної речовини в автотрофно детермінованій консорції. Тому метою дослідження є встановлення кількісного обліку мікроорганізмів у підстилці та ґрунті консорцій родів Populus і Ulmus в умовах промислових ділянок Кривбасу.

Об'єктом дослідження були консорції родів Ulmus і Populus санітарно-захисних зон промислових підприємств Кривбасу. Закладено 6 пробних ділянок на території промислових ділянок 5 гірничо-збагачувальних комбінатів (ГЗК): дробильно-сортувальних фабрик ВАТ „Інгулецький ГЗК", ВАТ „Південний ГЗК", ВАТ „Центральний ГЗК" та промислових ділянок блюмінгу й мартенівського виробництва гірничо-металургійного комбінату ВАТ„АрселорМітал Кривий Ріг" і теплосилового цеху ВАТ „Північний ГЗК". Як контроль закладено пробну ділянку на території Криворізького ботанічного саду НАН України. Для виділення мікроорганізмів використані методи посівів на селективні поживні середовища, які були виконані у сертифікованій лабораторії.

У підстилці консорцій Ulmus і Populus відмічено інтенсивний розвиток мікроміцетів порівняно за цим показником для консорцій контрольної ділянки. Так, чисельність мікроміцетів у підстилці в обох консорціях на промислових ділянках становить $3*10^2 – 4,9 * 10^5$ кл/г, а у консорціях контрольної ділянки $–3*10^1 –3*10^2$ кл/г. У ґрунті обох консорцій в умовах техногенезу відмічається підвищений розвиток міксоміцетів порівняно за цим показником для консорцій контрольної ділянки. Так, їх чисельність у ґрунті консорцій промислових ділянок становить $4*10^4 –6,2*10^5$ кл/г, у ґрунті консорцій контрольної ділянки $–2*10^2 – 2*10^3$кл/г. Максимальний розвиток мікроміцетів у підстилці та ґрунті відмічено у консорціях Populus на території промислової ділянки блюмінгу ВАТ „АрселорМітал Кривий Ріг" $3*10^4 – 6*10^5$кл/г та у консорціях Ulmus $3*10^5 – 6,2*10^5$кл/г. Мінімальні значення характерні для підстилки та ґрунту консорцій Populus і Ulmus контрольної ділянки – $1*10^2 – 2*10^2$ кл/г і $1*10^2 – 2*10^3$ кл/г. Чисельність бактерій у підстилці та грунті консорцій Populus і Ulmus на промислових ділянках порівняно за цим показником для консорцій контрольної ділянки різко зменшений. Так, для обох консорцій у підстилці та ґрунті в умовах промислових ділянок чисельність бактерій становить $1*10^2 – 5,4*10^5$ кл/г і $1*10^2 – 4*10^4$ кл/г, для консорцій контрольної ділянки – $5*10^4 – 9*10^6$ кл/г і $5*10^5 –7*10^6$ кл/г. Максимальний розвиток бактерій у підстилці та грунті характерний для консорцій Populus і Ulmus контрольної ділянки – $5*10^4 –9*10^6$ кл/г і $5*10^5 – 7*10^6$ кл/г, мінімальні значення - характерні для консорцій Populus і Ulmus промислової ділянки блюмінгу ВАТ „АрселорМітал Кривий Ріг"– $1*10^2 –2*10^3$ кл/г і $1*10^3 –2,9*10^4$ кл/г.

На основі отриманих результатів із кількісного обліку мікроорганізмів у підстилці та ґрунті консорцій Ulmus і Populus в умовах промислових ділянок Кривбасу характерним є

переважання у мікрофлорі мікроміцетів. Встановлені особливості можуть бути використані при пізнанні структурно-функціональної організації та розробки шляхів відновлення біологічного різноманіття на рівні консорційних екосистем індустріального регіону.

Лазуркевич Х.

ІНФОРМАТИВНІСТЬ ПОКАЗНИКІВ МОДЕЛЬНОГО ОБ'ЄКТА ГЕТЕРОЗИГОТНИХ РОСЛИН *NICOTIANA TABACUM* (*SUL*+) ДЛЯ ВСТАНОВЛЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ МУТАГЕННОГО ФОНУ ДОВКІЛЛЯ

Івано-Франківський національний медичний університет
вул. Галицька, 2, м. Івано-Франківськ, 76000, Україна
lazurkevych@i.ua

Пошук інформативних тест-систем для індикації мутагенів у довкіллі є пріоритетним завданням екологічної генетики. Для встановлення ступеня мутагенного забруднення використано модельний тест-об'єкт - гетерозиготні рослини *Nicotiana tabacum* (*Su*/+), які вирощували на зразках ґрунтів із різних районів Івано-Франківської області впродовж двох років. Вивчено динаміку фенотипових змін дослідних рослин (термін та індекс проростання, час появи розетки, висота і діаметр стебла, кількість ї розміри листків) у комплексі з аналізом інтенсивності змін спадкового апарату. Останні оцінювали за кількістю та площею плям на листках, які є проявом мутацій *Sulfur* гена рослин *Nicotiana tabacum*. Для виявлення значущості отриманих показників нами застосовано однофакторний дисперсійний аналіз.

Встановлено затримку схожості *Nicotiana tabacum* на хімічно забруднених ґрунтах Калуша та Бурштина відповідно до 61,01±2,65 і 30,02±2,00%, а також формування розетки на цих же ґрунтах в 1,1 – 1,3 разу порівняно з показниками рослин, пророщених на умовно екологічно чистому ґрунті Верховинського району. Виявлено залежність висоти рослин від терміну їх висівання на зразках різних ґрунтів. За результатами однофакторного дисперсійного аналізу з вірогідною ймовірністю P = 1-б = 0,95 встановлено істотніший вплив хімічного складу та виду ґрунту на висоту рослин на 30, 37 і 40 дні експерименту порівняно з таким на 16 і 23 дні з моменту висівання насіння. Подібні дані отримані щодо діаметра стебла, кількості й розмірів листків.

Проявом молекулярно-генетичних ефектів забруднених ґрунтів була поява темно-зелених (пряма мутація) або безбарвних (безхлорофільних) плям (обернена мутація) на світло-зелених гетерозиготних листках рослин *Nicotiana tabacum Su/+*. Кількість і площа плям залежить від ступеня забруднення ґрунтів радіоміметичними речовинами. Індекс рослин з плямами засвідчив перевагу за цим показником рослин, культивованих на зразках ґрунтів Калуша і Бурштина над таким з Верховини у 3,1 разу ($p < 0,05$). Кореляційний аналіз довів наявність сильних зв'язків між кількістю плям, кількістю листків з плямами та площею плям на рослину ($r > 0,9$, $p < 0,05$) у випадку Верховини. Кореляції середньої сили визначено між названими трьома показниками рослин, вирощених на зразках ґрунтів Бурштина ($r \geq 0,3$, $p < 0,05$), а слабкі взаємозв'язки встановлено між кількістю та площею плям на рослину з Калуша ($r = 0,2$). За допомогою однофакторного дисперсійного аналізу доведено, що стан ґрунтів різних районів позначається не на всіх вивчених показниках мутаційного процесу. Аналізом значення критерію Фішера-Снедекора показано, що фактор ґрунту не значно впливає на кількість листків із плямами. Водночас кількість плям на рослину може бути інформативнішим критерієм ступеня забруднення, ніж попередній. Статистично значущим (P = 1-б = 0,95) маркером наявності потенційних мутагенів у грунтах Калуського району, м. Бурштина виявився показник площі плям на рослину (на підставі LSD критерію досліджувані вибірки не утворюють однорідних груп).

Таким чином, встановлено залежність фенотипових і молекулярно-генетичних порушень у рослин *Nicotiana tabacum Su/+* від інтенсивності забруднення довкілля. У результаті перевірки відтворюваності експерименту доведено найбільшу інформативність двох показників тест-об'єкта - кількості та площі плям на рослину (для кількості плям і їх площі *F*- критичне було меншим за *F*-критерій перевірки попарної різниці ґрунтів з Калуша і Бурштина).

Maksymov L., Kiselev D.

BIODIVERSITY INDICATOR AND BIODIVERSITY MANAGEMENT SYSTEM AS A TOOLS AND METHODS IN ACHIEVING SUSTAINABLE DEVELOPMENT

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
Heroyiv Oborony 15, Kyiv 03041, Ukraine
leon.maks@gmail.com

Currently around 65% of the world's ecosystems have been destroyed or drastically changed as a result of the economic activity. For exam-ple, thousands of years of human activity have reduced forest coverage from around 50% to 30% of total land area, and deforestation continues at an alarmingly high rate. In a liberal market economy biodiversity resources have a consumer value, and their social and biological importance is not taken into account.

That is why, the United Nations proclaimed 2010 as an International Year of Biodiversity (IYB) for the raises public awareness the crucial importance of biodiversity. At the same time, the seven Millennium Development Goals (Ensure environmental sustainability, target 7B – reduce biodiversity loss, achieving, by 2010, a significant reduction in the rate of loss) is monitoring the world's plants and animals using the Red List Index developed by the International Union for the Conservation of Nature, IUCN. Therefore, it is very actual to links IYB with MDGs 7B, explore mutually beneficial relations and interdependency of these issues in direction to create a locally sustainable natural resource management system that would both prevent biodiversity losses and, simultaneously, ensuring environmental sustainability.

Practical arguments concerning the value of biodiversity often include the benefits of animals, plants and microbes as a source of food, shelter, closing etc. In this article we want to present

1. a conceptual model of biodiversity indicator and biodiversity management systems in achieving Sustainable development. These approaches suggest examining "biodiversity" not as a true object of benefits and services of living organisms, but as an indication which response to the problematization of survival motivated by the loss of biological diversity and the functional status of the earth system;
2. the strategies of social movements and role of young people in building a greener society based on ecological economics, and about methods that can be used to make youth work efficient and effective by implementing of new approaches of ''organizing scientific framework'' and promote intercultural and inter-ethnic understanding in achieving Sustainable Development;
3. initial plan for assessing the effectiveness of measures used to maintain or enhance of High Conservation Values related to globally, regionally or nationally significant biodiversity present in the project zone.

The author underlines the urgency of the challenge concerning biodiversity issues on the current stage, and, in the consequently of our work, we developed partial execution in achieving Sustainable Development by actively engaging in biodiversity preservation activities, because with improved biodiversity management and a more secure environmental and social asset base, communities were able to increase their consciousness concerning importance of biodiversity and training the careful attitude to environment.

Микитин Т.

ЕКОЛОГІЧНІ ОСОЛИВОСТІ МУРАШОК ТА ЇХ ПОШИРЕННЯ В КАРПАТСЬКОМУ РЕГІОНІ

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника
вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76025, Україна
mukutuntanja@rambler.ru

Українські Карпати є унікальним природним скарбом визначної краси та екологічної цінності, важливим центром біорізноманіття, головним водозбором великих річок,

необхідним середовищем існування та притулком для багатьох видів рослин і тварин, які перебувають під загрозою зникнення, та найбільшою у Європі територією пралісів з їх унікальною фауною і флорою, важливою частиною екологічного, економічного, культурного, рекреаційного довкілля у серці Європи, спільного для багатьох народів і країн. Ліси Українських Карпат піддаються негативному впливові з боку шкідливих комах. Багато авторів вважають, що мурашки можуть зайняти одне з перших місць серед методів знищення шкідників лісу. Відносна поліфагія мурашок, здатність їх переходити при недостачі поживи на інший корм, наявність в різноманітних умовах, робить їх виключно цінними ентомофагами. Детальніше вивчення екологічних особливостей мурашок та їх поширення допоможе у збереженні лісових насаджень і сприятиме їхньому розселенню на більші території.

Метою роботи було описати екологічні особливості та поширення мурашок на території Українських Карпат (Львівська, Івано-Франківська, Чернівецька і Закарпатська області).

Об'єктом дослідження була фауна мурашок Українських Карпат, особливу увагу звертали на представників виду Formica rufa.

Дослідження проводили на території лісгоспів Львівської, Івано-Франківської, Чернівецької і Закарпатської областей протягом літа 2009 року. Були закладені дослідні ділянки, за якими і описували територію дослідження, а саме: проводили підрахунок гнізд, визначали повноту деревостану і висоту над рівнем моря та їх вплив на кількість мурашників, а також спостерігали за приналежністю мурашок до певного типу лісу і за їх розселенням у різних біотопах.

На території Чернівецької області знайдено 1196 мурашників, Івано-Франківської – 568, Закарпатської – 1276 і Львівської - 3968 . В загальному на території 4 областей виявлено 7008 мурашиних гнізд.

Оптимальною зоною поширення мурашок є ліс повнотою від 0,6 до 0,8 на висоті 140-800 м н.р.м. Нижче і вище даного оптимуму кількість мурашиних гнізд, які знайдені в дослідній ділянці, дорівнює 1-3.

Мурашки віддають перевагу поселенню у деревостанах (59 %), на краю лісу (32 %), на поляні (2 %), на сінокосі (2 %), а тому можна вважати, що більшість мурашок виступають сапрофітами, а не ентомофагами, а це скеровує на розселення мурашок видів *F. rufa* і *F. polyctena*.

Мурашки поширені у всіх типах лісу, але оптимальними для них є такі: вологі сосново-дубово-буково-ялиново-грабові сугруди, свіжі грабово-буково-дубові діброви, вологі грабово -дубово-буково-ялинові діброви, свіжі дубово-соснові субори, вологі дубово-соснові субори.

Встановлено, що у місцях поширення рудих лісових мурашок різко зменшується чисельність шкідників лісу. Шкідниками лісу, яких знищують мурашки є: сосновий пильщик -ткач (Lyda erythrocephala), звичайний сосновий пильщик (Diprion pini), монашка (Lymantria monacha), шовкопряд дубовий (Lymantria dispar), представники родин П'ядуни (Geometridae), Шовкопряди (Taumetopoeidae) і Совки (Noctuidae).

Передерко Л., Стефурак В.

АДАПТАЦІЇ ТА СТРЕСИ STRUTHIO CAMELUS ПРИ ВОЛЬЄРНОМУ РОЗВЕДЕННІ ЗА УМОВ КАРПАТСЬКОГО РЕГІОНУ

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника
вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76025, Україна
LesiaPerederko@ukr.net

Страус африканський – це птах, який відзначається високим рівнем адаптаційних можливостей, зокрема, до умов вольєрного розведення. Стрес – це один із найважливіших чинників, який впливає на розвиток страусів. Основний стресовий фактор, спричинений неправильним доглядом, знижує рівень продуктивності. Найчастіше стреси у вольєрних умовах пов'язані з кліматичними аномаліями (відсутність вітрозахисних огорож, навісів над вигульними територіями, огорожі), недостачею корму чи його незбалансованим раціоном, обмеженням

рухливості (недотримання норм оптимально допустимої площі), різноманітними шумами, сторонніми відвідувачами, патогенними мікроорганізмами (внутрішній стрес).

У біологічному циклі поведінка цих птахів суттєво змінюється у різні періоди їх існування. Тому для визначення потенційної здатності до адаптації та оцінки її реалізації за відповідних екологічних умов ми провели спостереження за страусами африканськими в умовах помірно-континентального клімату і пропонуємо адаптаційні можливості страусових розділити на групи – загально топічні адаптації, репродуктивно-топічні адаптації, трофічні особливості та рівень синантропізації.

Метою роботи є дослідження адаптаційних можливостей страусів африканських і стресових умов при вольєрному розведенні.

При визначенні рівня загально топічних адаптацій нами було проведено оцінку уподобань страусів африканських і їх тяжіння до певного виду діяльності. В загальному у поведінці птахів даного виду можна відмітити такі періоди, як оглядання прилеглої території, поїдання корму, водопій, пересування з місця на місце, відпочинок, стояння, поведінка, що приносить задоволення, поведінка залицяння й агресія в період розмноження, вищипування пір'я, клювання, голосова поведінка. При репродуктивно-топічній адаптації враховувалися процеси залицяння та спарювання. Вивчення трофічних особливостей особин у популяції страусів є важливим фактором для визначення їх екологічного стану. За ними можна встановити перспективу розвитку угруповання та спланувати заходи щодо оптимального розведення страусів відповідно до природних умов. У нових для страусів африканських природних умовах вони адаптувалися до кормового раціону та пристосувалися до широкого спектру живлення. До рівня синантропізації ми віднесли найважливіший, на нашу думку, антропогенний фактор, який має найбільше відношення адаптації страусів африканських до нетипових для них екологічних територій. За умов вольєрного розведення сюди відносимо такі показники, як можливість адаптуватися до відповідно створених людиною біотехнічних заходів, тобто здатність виду до штучного розведення за певними рекомендованими технологіями й оптимального живлення в рамках обмежених ареалів. Така комплексна оцінка характеризує здатність страусів адаптуватися до екологічних умов із антропогенним впливом.

Врахування адаптаційних можливостей страусів африканських і створення умов для запобігання стресовим ситуаціям є важливим при вольєрному розведенні та сприятиме підвищенню ефективності розвитку страусівництва.

Сашина Ю.

ОСОБЛИВОСТІ БІОЛОГІЇ І ЕКОЛОГІЇ *WLASSICSIA PANNONICA* DADAY

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65023, Україна
sashina@normaplus.com

W. pannonica – єдиний представник роду Wlassicsia у Східної півкулі. Рачок належить до ряду Cladocera, сім. Macrocidae Norman et Brady, 1867, п/сім. Macrotricinae N. N. Smirnov subf. N.; рід Wlassicsia Daday, 1904, *Wlassicsia pannonica* Daday, 1904 (Петросян, Дятлов, Кошелев, 2003).

Останнім часом для оцінки якості природних вод використовують тест-об'єкти не завжди відповідні для біотестування, оскільки вони не існують у воді з великою кількістю завісу, тому необхідно шукати нові види, для яких такі умови не будуть шкідливими. Таким об'єктом і є *W. pannonica*, яка мешкає у придонному шарі. Цей вид використовували для токсодіагностики витяжок донних відкладень (Брагинский, 2000). Також він є аборигенним, планктобентичним видом Дунаю.

Дослід проводився протягом місяця. У роботі використовували одноденні ювеніси *W. pannonica*. Експеримент був виконаний у 2 варіантах: варіант А – стабільна температура 23 ± 2°С і постійне штучне освітлення більш ніж 1000 лк.; варіант Б – температура 16 ± 2°С, з природним освітленням менш ніж 1000 лк. Як корм використовували суміш прісноводних мікроводоростей *Chlorella vulgaris* і *Scenodesmus quadricauda*, щільністю клітин 1,0 - 1,2 • 10^6 кл/мл.

Порівняно з іншими видами *W. pannonica* малорухлива, тримається біля дна, іноді виконуючи стрибкоподібні рухи у товщу води (Петросян, Дятлов, Кошелев, 2003). Протягом усього досліду *W. pannonica* активно відфільтровувала кормову суміш. У ході експерименту визначено, що при погіршенні умов у популяції з'являються самці та ефіпіальні самиці, що характеризує даний вид як поліциклічний.

У сприятливих умовах (варіант А) самиці мали найбільш динамічний зріст, більшу плодючість і не утворювали ефіпіїв; у варіанті зі субоптимальними умовами (варіант Б) самиці мали не велике зростання, меншу кількість потомства, але утворювали велику кількість ефіпіїв. Самці мали значно менші розміри, ніж самиці.

Короткий життєвий цикл, висока плодючість, широкий діапазон оптимальних умов культивування дають змогу вважати даний вид гіллястовусих ракоподібних придатним для використання у біотестуванні.

Сенечин Н.[1], Джура Н.[1], Романюк О.[2], Цвілинюк О.[1], Терек О.[1]

РЕАКЦІЇ РОСЛИН НА ДІЮ НАФТОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТУ

[1]Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
[2] Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії
і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України
вул. Наукова 3[a], м. Львів, Україна
senechyn@gmail.com

Проблема нафтового забруднення є однією з найактуальніших і найважливіших проблем нашого часу. З розвитком масштабів видобутку нафти і розростанням інфраструктури для її транспортування та переробки збільшується негативний вплив на довкілля. Це одна із найнебезпечніших для природи індустрій. Щорічно десятки тонн нафти забруднюють ґрунти, знижуючи їх родючість. Більшість земель тією чи іншою мірою забруднені сьогодні нафтопродуктами (Вальков, 2004; Андресон, 1980).

Одним із напрямків наших наукових досліджень є вивчення чутливих фізіологічних реакцій рослин на дію забруднення ґрунту нафтою з метою подальшого прогнозування ефективності застосування рослин-фіторемедіантів та розроблення фіторемедіаційних заходів нафтозабруднених територій шляхом розширення видового різноманіття насіннєвим способом.

Об'єктами досліджень були однорічні насінні (білковмісні та олійні) рослини-фіторемедіанти: біб кормовий (*Vicia faba* var. minor), льон звичайний (*Linum usitatissimum* L.), ріпак (*Brassica napus* L.). Досліди закладали у лабораторних умовах. У посудини з ґрунтом вносили нафту в концентрації 10, 25 і 50 г/кг ґрунту. Після необхідного терміну для вивітрювання летких токсичних сполук (7 тижнів) висаджували попередньо замочене у воді насіння вищезгаданих рослин. Контролем слугували рослини, вирощені на ґрунті без нафти. Схожість насіння визначали на 5-ту, 10-ту, 14-ту і 16-ту добу після висаджування. Після 25 днів росту у рослинах аналізували морфометричні показники та вміст пігментів фотосинтезу.

Нами виявлено стимулюючий вплив низьких концентрацій нафти (10 г/кг) на процес проростання насіння, ростові показники та вміст фотосинтетичних пігментів усіх досліджуваних об'єктів: *V. faba*, *L. usitatissimum* і *B. napus*. Тоді як за дії нафти 25 і 50 г/кг насіння ріпаку практично не проросло. Показано високу токсичність ґрунту, забрудненого нафтою у кількості 50 г/кг, – схожість насіння рослин усіх видів дуже низька. Виявлено залежність нагромадження сирої та сухої маси органами рослин, а також вмісту фотосинтетичних пігментів у листках бобу кормового, льону звичайного і ріпаку від кількості нафти у ґрунті та стійкості виду до даного забруднення.

На основі проведених досліджень встановлено стійкість фіторемедіантів до нафтопресингу, що спостерігається у ряді: *біб кормовий > льон звичайний > ріпак.* Отже, найстійкішим до дії нафти у ґрунті є біб кормовий, тому його доцільно використовувати для фіторемедіації нафтозабруднених територій.

Сєрик С., Маловічко О.

ЗАХОДИ ЗБЕРЕЖЕННЯ ТА ВІДТВОРЕННЯ ЗЕМЕЛЬНИХ РЕСУРСІВ ВІННИЦЬКОЇ ОБЛАСТІ

Національний авіаційний університет
проспект Комарова 1, м. Київ, 03038, Україна
Simbad28@ukr.net

Земельні ресурси - головне багатство України. Складовою земельних ресурсів є грунтовий покрив, який за різноманіттям і структурою відіграє важливу роль в існуванні природного середовища. В останні десятиріччя екологічний стан грунтів погіршився і потребує збереження та відтворення (Космина А.А., 1999 р.).

Земельний фонд області стоновить 2649,2 тис.га. Майже 75% території зайнято сільськогосподарськими землями, з них сільськогосподарських угідь – 76,2%, у т.ч. ріллі – 65,3%, багаторічних насаджень – 1,9%, сіножатей і пасовищ – 9%. Ліси та інші лісовкриті площі займають – 14.2% території. Забудовані землі становлять 4,0%, болота – 1,1%, інші землі (піски, яри, кам'янисті місця та інші) – 3 % площі. Територія суші становить 2606,2 тис. га, або 98,4% від загальної площі області, решта 1,6% площі зайнята водою (Яворська О.Г., 2005 р.).

Результати проведених досліджень показали, що нераціональне використання ґрунтів протягом тривалого часу веде до гострої нестачі тієї чи іншої поживної речовини, тобто до зниження їх родючості. При цьому важливим показником рівня родючості ґрунтів є вміст гумусу, який у ґрунтах Вінниччини підпорядкований певній зональності с зумовлений особливостями генезису ґрунтів, а також залежить від типу ґрунтоутворення та гранулометричного складу, виду рослинності тощо. В цілому дія різних екологічних факторів призвела до порушенння припустимого співвідношення площ ріллі, природних кормових угідь, лісових і водних територій, що обумовило деструктивні процеси у ландшафтах, а в окремих регіонах довело і до екологічної кризи (Українець О.І., 2005 р.).

У зв'язку з цим основні заходи збереження і відтворення земельних ресурсів полягають у втіленні в життя науково обгрунтованої системи організаційно-господарських, агротехнічних, лісомеліоративних і гідротехнічних заходів, спрямованих на раціональне використання земельних ресурсів, збереження й підвищення родючості грунтів, відтворення їх продуктивності з метою найкращого використання усіх біологічних можливостей агроценозів. Ефективність цих заходів залежить від глибини якісних змін у ґрунтовому покриві, викликаних стихійним або антропогенним впливом, а також від фізико-географічних і насамперед грунтово-кліматичних умов. Організаційно-господарські заходи повинні передбачити головним чином вирощування на крутосхилах лісів або садів, які їх надійно захищають. Уздовж водотоків і річок слід зберігати та відновлювати спеціальні захисні ліси водорегулюючого значення. Також доцільним є запровадження нового порядку використання хімічних речовин, добрив і отрутохімікатів (Коптаренко О.К., 2005 р.).

В цілому запропоновані практичні заходи можуть забезпечити підвищення якості земель, привести до використання екологічно обґрунтованих норм і впровадження нових нормативів землекористування. Ці заходи сприятимуть сталому розвитку природного середовища й вирішенню ряду еклогічних проблем області.

Станевич Н.

ТОКСИКОМЕТРИЧНИЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ВОДИ З ВИКОРИСТАННЯМ *WLASSICSIA PANNONICA* DADAY

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65023, Україна
Mark_mc@bk.ru

W. pannonica-єдиний представник гіллястовусих ракоподібних, що мешкає у донних, замулених відкладеннях,і є зручним тест–об'єктом для біотестування (Брагинський, 1995).

Відомо, що у донних відкладеннях акумулюється більшість токсикантів. На жаль, практично відсутні біотести з використанням бентосних гіллястовусих ракоподібних, зручних для біотестування донних відкладень (Дятлов, 2000).

В експеримент відбиралися дорослі, статевозрілі самиці й однорозмірні добові ювеніси. Були використані солі важких металів: стандартний токсикант $K_2Cr_2O_7$, та $CuCl_2$, $CdSO_4$, так як вони мають високу токсичність і широке розповсюдження. Чашки Петрі з розчинами і контролем поставили на експозицію на розсіяному денному світлі при

t 20˚С ±2˚С. Під час експерименту організми не годували. Тривалість досліду 72 години.

За результатами досліджень було встановлено, що $CdSO_4$ виявився найтоксичнішим, як для яйценосних самиць, так і для ювенільних стадій. Наступною за токсичністю була сіль $CuCl_2$, а менш токсичним виявився $K_2Cr_2O_7$. При порівняльній характеристиці чутливості до токсикантів ювенільних стадій і статевозрілих самиць *W. pannonica* стійкішим виявилися оваріальні самки.

Летальна концентрація (LC_{50}^{24}) для статевозрілих самиць становила: $K_2Cr_2O_7$ – 2,61±0,84 мг/дм^3; $CuCl_2$ – 0,73±0,51 мг/дм^3; $CdSO_4$ – 0,41±0,49 мг/дм^3. Для ювенільних стадій: $K_2Cr_2O_7$ – 0,19±0,71 мг/дм^3; $CuCl_2$ – 0,06±0,32 мг/дм^3; $CdSO_4$ – 0,01±0,05 мг/дм^3. По мірі зростання токсичність розподілилася таким чином: $K_2Cr_2O_7 > CuCl_2 > CdSO_4$.

Шевчик Л.[1], Джура Н.[1], Романюк О.[2], Цвілинюк О.[1], Терек О.[1]

БІОТЕСТУВАННЯ НАФТОЗАБРУДНЕНОГО ҐРУНТУ

[1]Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
[2] Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії
і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України
вул. Наукова 3[a], м. Львів, Україна
senechyn@gmail.com

Розвиток нафтової і нафтопереробних галузей породжує щораз більше проблем, пов'язаних із забрудненням навколишнього середовища. Самоочищення ґрунтів відбувається відносно повільно за участю абіотичних і біотичних факторів. Значну роль у відновленні нафтозабруднених ґрунтів відіграють мікроорганізми різних систематичних груп, які здатні засвоювати вуглеводні нафти як єдине джерело вуглецевого живлення. До них належать усі види міксоміцетів, дріжджів і бактерій. Показано, що представники мікрофлори (водорості) і мегафауни ґрунтів (дощові черв'яки) також беруть участь у деградації нафтопродуктів у ґрунті. Також є дані щодо участі вищих рослин у цьому процесі (Киреева, 1995; Медведева, 2002; Микроорганизмы и охрана почв, 1989; Стабникова, 1995; Стом, 2003).

Контроль ефективності процесу очищення ґрунту і детоксикації нафтопродуктів можна проводити як аналітичним визначенням вмісту вуглеводнів (цей метод дорогий, тривалий у часі), так і дослідженням токсичності ґрунту біотестуванням. У цьому відношенні рослинні тест-системи мають істотні переваги перед приладами: дешеві, легко відтворюються, швидко розмножуються, мають типову відповідну реакцію на вплив. Тому метою даної роботи було проведення фітотестування нафтозабруднених ґрунтів, до і після ремедіації, з подальшим прогнозуванням ефективності застосування рослин-фіторемедіантів для відновлення нафтозабруднених територій.

Об'єктом досліджень були нафтозабруднені ґрунти, на яких вирощували насінні (білковмісні та олійні) рослини-фіторемедіанти: біб кормовий (*Vicia faba* var. minor), льон звичайний (*Linum usitatissimum* L.) та ріпак (*Brassica napus* L.). Попередньо замочене у воді насіння вищезгаданих рослин висаджували у грунт, забруднений нафтою в концентрації 10, 25 і 50 г/кг. Зразки грунту без рослин з вищенаведеними концентраціями нафти, без нафти з рослинами і без нафти й без рослин були контрольними. Після 25 днів вирощування фіторемедіантів проводили тестування ґрунтів: визначали pH ґрунтової витяжки і

фітотоксичність. Основними тест-показниками фітотоксичності були індекс схожості й індекс проростання насіння *L. usitatissimum*.

Нами встановлено, що у нафтозабрудненому ґрунті (10 і 25 г/кг), рекультивованому рослинами бобу кормового, льону звичайного і ріпаку, реакція ґрунтового розчину слабо- кисла, pH коливалося в межах контролю. Тоді як за дії нафти 50 г/кг та рослин спостерігали незначне підкислення ґрунту.

Показано пряму залежність впливу нафти на досліджувані тест-показники *L. usitatissimum*. Виявлено високу фітотоксичність ґрунту за дії сирої нафти у кількості 50 г/кг – індекс схожості *L. usitatissimum* дорівнював 0. Встановлено зниження фітотоксичності нафтозабрудненого ґрунту (10, 25 г/кг) за участю фіторемедіантів. Найефективнішими серед них є рослини бобу кормового *(Vicia faba* var. minor), які знижували токсичність ґрунту удвічі, порівняно з льоном і ріпаком.

На основі проведених досліджень робимо висновок, що біб кормовий можна рекомендувати для ремедіації ґрунтів різного ступеня забруднення нафтою. В умовах низького і середнього ступеня забруднення (10-25 г нафти на 1 кг ґрунту) можна використовувати олійні рослини – льон звичайний (*Linum usitatissimum* L.) і ріпак (*Brassica napus* L.).

ЗООЛОГІЯ / ZOOLOGY

Івашків І., Шидловський І.

СТАТЕВА ТА ВІКОВА СТРУКТУРА ЗГРАЙ ВУСАТИХ СИНИЦЬ В ЧАС ОСІННЬОЇ МІГРАЦІЇ В ЗАКАЗНИКУ "ЧОЛГИНСЬКИЙ"

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
igorivashkiv@gmail.com

Збір матеріалу проводили у 1995-2007 роках, протягом серпня (за винятком 1999 року, коли відлов птахів проводили ще й протягом липня), в орнітологічному заказнику "Чолгинський", який розташований в південних межах Українського Розточчя, а в адміністративному плані – у Яворівському районі Львівської області. Досить цікавою виявилася динаміка вилову вусатих синиць у різні роки, протягом літньо-осінньої міграції. На нашу думку вона залежить від метеорологічних показників зими, а відповідно, стану перезимування особин виду. Адже високий сніг і часті відлиги утворюють міцний наст та призводять до обмерзання пагонів усієї навколоводної рослинності та місць, де птахи збирають корм. Це у свою чергу, призводить до дефіциту корму і ставить під загрозу їхнє життя. Кількість відловлених птахів впродовж міграційного сезону, щороку, вимірювалася одиницями або ж десятками особин (в середньому 12 птахів на рік). Проте, у 2001 році відбулося значне зростання кількості відловлених вусатих синиць до 106 особин. Всього протягом 13 років досліджень нами було відловлено та закільцьовано біля 240 особин досліджуваного виду.

Щоб вияснити співвідношення самців і самок, дорослих і молодих птахів в час осінньої міграції, було проведено аналіз зібраних даних. У різні роки, в залежності від кількості спійманих синиць, співвідношення самців і самок було різним. Як правило, самці чисельно переважали самок, хоча траплялися роки, коли було й навпаки. Так, наприклад, у 2001 і 2002 роках самки переважали над самцями на 11 та 3 особин відповідно.

Співвідношення молодих і дорослих особин є нерівномірним. За 13 років роботи польового табору, було відловлено 160 молодих (67% всіх спійманих вусатих синиць) і 77 дорослих (33%) особин вусатої синиці. Співвідношення статей в молодих птахів становило приблизно 1:1,7 (самки/самці), а в дорослих птахів, воно було дещо іншим і складало 1:1,3 (самки/самці).

Щодо співвідношення кількості відловлених молодих і дорослих особин, то воно є майже однаковим (1:1). Лише в 2001 році спостерігалася значна перевага молодих птахів над дорослими.

Наші спостереження за синицями вусатими, в час літньо-осінньої міграції, свідчать про те, що вони тривалий час у післягніздовий період ведуть родинний спосіб життя і тому під час відловів до сітки переважно потрапляють усі або більшість птахів родинної групи. Спочатку, до сітки ловиться один птах, який починає видавати тривожні сигнали, на які й злітається увесь виводок. Починаючи окрикувати навколо загрозливе становище свого «родича» та перепурхувати поруч, інші птахи цієї групи також потрапляють в тенети.

Кунець О., Яворницька І.

ЧИСЕЛЬНІСТЬ ЕНХІТРЕЇД *(ENCHYTRAEIDAE, OLIGOCHAETA)* НАЗЕМНИХ ЕКОСИСТЕМ ЗАПОВІДНИКА „РОЗТОЧЧЯ”

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
kom88@i.ua

На даний час великого значення набуває вивчення структурно-функціональних особливостей природних екосистем, що дає можливість розробити заходи для вирішення проблем підвищення продуктивності і стабільності екосистем.

Енхітреїди є групою безхребетних тварин, які належать до типу Кільчасті черви (Anelida), класу Малощетинкові (Oligochaeta). Енхітреїди завдяки широкому розповсюдженню, великій чисельності,

значній видовій різноманітності, швидкій реакції на зміни грунтово-рослинних умов зарекомендували себе перспективною групою для проведення досліджень тваринного населення екосистем.

Енхітреїди мають велике значення у формуванні правильної структури і збільшенні родючості грунтів через механічне дроблення та змішування решток рослин з мінеральними частками, а також впливають на швидкість розкладу рослинного опаду. Особливо велике значення енхітреїди відіграють в кислих грунтах, у яких обмежена діяльність дощових черв'яків.

Для з'ясування змін в угрупованні енхітреїд антропогенно змінених екосистем, порівняно з природними формаціями проводили збір матеріалу на території заповідника «Розточчя». Регіон Розточчя має велике значення для Центрально-Східної Європи, оскільки тут проходить частина європейського вододілу. Ландшафт Розточчя характеризується своєю неоднорідністю у звязку з розташуванням його на стику різних природних районів. З півночі пролягає Мале Полісся з буковими лісами, болотами і луками, зі сходу і півдня розташоване Подільське плато з буковими лісами і лучними степами, які збереглись і потребують охорони. Із південного заходу близько підходять Карпати. Розточчя – це єдине на Україні місце, де на порівняно невеликій території сконцентрована велика різноманітність лісових насаджень і типів лісу, ландшафтів, водоймищ і боліт зі своєю унікальною палітрою фауни. Переважаючу площу в заповіднику займають мішані хвойно-широколистяні ліси, головним чином дубово-соснові, менше – сосново-дубово-букові. У структурі грунтового покриву домінують дерново -підзолисті і світло-сірі опідзолені грунти. За гранулометричним складом домінуючими типами грунтів є легкосуглинкові, супіщані та піщані грунти низької протиерозійної стійкості.

Метою нашої роботи було вивчення чисельності угруповань енхітреїд на даній території. Об'єктом досліджень були угруповання грунтових енхітреїд (Enchytraeidae, Oligochaeta).

Для досягнення поставленої мети були визначені такі завдання: на підставі літературних даних та власних досліджень визначити чисельність, біомасу і якісний склад угруповань енхітреїд на території Природного заповідника «Розточчя».

Збір матеріалу проводився біогеоценометром загальноприйнятими в грунтовій зоології методиками. Вигонка енхітреїд зі зразків грунту здійснювалася згідно з методикою О'Коннора.

На даний час, згідно з дослідженями Яворницької Ірини Василівни 2008р. для території Львівської області відомо 21 вид енхітреїд, що належать до 10 родів.

У результаті проведених досліджень, у трьох екосистемах заповідника «Розточчя» встановлено показники чисельності угруповань енхітреїд. Максимальними показниками характеризуються грунти профілю П'ясецького. Середня чисельність за осінній період тут становить 7634,13 особ./м^2. Сприяють цьому позитивні кліматичні умови і відсутність будь-якого антропогенного і рекреаційного навантаження. Мінімальна різниця чисельності була на двох наступних ділянках. Середня чисельність угруповань енхітреїд на ділянці агроценозу становить 2329,53 особ./м^2, на післялісовій луці становить 2301,47 особ./м^2.

Біомаса енхітреїд визначалася з довжини тіла за формулою, запропонованою Makulec 1983 року. Середня біомаса на ділянці профілю становить 27938,8 млгр/м^2, це був найвищий показник значення. Статистично незначна різниця вичислена в розподілі біомаси між агроценозом - 5430,5млгр/м^2 і лукою - 4678,7 млгр/м^2.

За трофічною спеціалізацією енхітреїди є активними сапрофагами, які відіграють важливу роль у деструкції відмерлої органіки. Висока, або мала чисельність свідчить про їх участь і значення у деструкційних процесах екосистем.

Кусьнеж О., Дикий І.

МОНІТОРИНГ РУКОКРИЛИХ (CHIROPTERA) ПІДЗЕМНИХ ПОРОЖНИН РОЗТОЧЧЯ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
kusnerza@mail.ru

Основні печерні сховища рівнинної частини Львівщини розташовані на Розточчі. Розточчя тягнеться на північний захід від Львова до Люблінської височини. Печер в районі ма-

ло, вони переважно невеликого об'єму, деякі з них штучно збільшені. На Розточчі цінність для рукокрилих становлять 4 печери: Медова, Страдчанська, Грот, Лисяча Нора. Нами проводився моніторинг печер з осені 2007 по весну 2010 року.

Медова печера розташована на південно-східних околицях Львова, на краю лісопаркового масиву. Фауна рукокрилих печери складає 9 видів: *Barbastella barbastellus, Plecotus auritus, Plecotus austriacus, Myotis myotis, Myotis daubentoni, Myotis nattereri, Myotis bechsteinii, Myotis blythii, Eptesicus serotinus.* Протягом всіх обліків Медової печери з 2007 по 2010 роки нам вдалося зареєструвати 6 із 9 видів, які історично відмічалися в цій порожнині. Такі види рукокрилих, як нічниця довговуха (*Myotis bechsteinii)*, нічниця гостровуха (*Myotis blythii*), вухань австрійський (*Plecotus austriacus*), ми не спостерігали під час обліків. Підвищення кількості особин видів *Myotis myotis, Eptesicus serotinus, Plecotus* sp. спостерігається навесні та восени, які літають неподалік печери і одноразово можуть у ній реєструватися. У сезонних міграціях Медова печера відіграє важливу роль тимчасової схованки. Рукокрилі в печері на зимівлю з'являються тільки після першого снігопаду.

Страдчанські печери (Страдчанська, Грот, Лисяча Нора) розташовані 25 кілометрів на північний захід від Львова, біля села Страдч Яворівського району Львівської області. Історично у Страдчанській печері було зареєстровано 10 видів рукокрилих *(Баштa, 1998)*: *Rhinolophus hipposideros*, *Myotis myotis*, *Myotis bechsteinii*, *Myotis nattereri*, *Myotis mystacinus*, *Myotis daubentoni*, *Eptesicus serotinus*, *Plecotus auritus*, *Plecotus austriacus*, *Barbastella barbastellus*. Печера є колишнім монастирем і стала місцем паломництва великої кількості людей, що безпосередньо впливає на хіроптерофауну печери, а також істотно порушує її мікрокліматичні показники. Під час проведення обліків в цій печері нами не було зареєстровано жодного виду кажана. Біля Страдчанської печери розташована печера Грот, в якій на зимівлях 2008/2009 і 2009/2010 реєструвалися 1-2 особини *Plecotus auritus.* Зважаючи на великий вхід у печеру, температурний режим відповідає холодолюбним видам кажанів. У печері Лисяча нора було відмічено такі види кажанів: *Myotis myotis*, *Barbastella barbastellus, Plecotus auritus*, *Myotis bechsteinii*. Незважаючи на невеликі розміри печери (довжина ходів становить приблизно 35 метрів), вона є важливим сховищем для рідкісних видів рукокрилих не лише Розточчя, а й для цілого регіону зокрема.

Встановлено, що печери Розточчя є постійними сховищами для кажанів тільки під час зимівлі. В літній період рукокрилі в печерах не спостерігались. Проте вони є важливими місцями під час їх міграцій, коли відіграють роль тимчасових сховищ. Для печер характерними є велика кількість недоступних для людини заглибин і щілин, що можуть бути хорошими укриттями для рукокрилих. Незважаючи на численнії труднощі, обліки кажанів у підземних сховищах широко використовуються як метод моніторингу. Загалом умови, які спостерігаються у печерах Розточчя, дуже сприятливі для зимівлі кажанів, однак антропогенний чинник часто стає вирішальним для їх використання рукокрилими. Поки що єдиним діючим методом охорони цінних місць зимівлі від неконтрольованих турбувань людьми є їх забезпечення спеціальними гратами. Найчастіше найкращим методом є замикання входів печер тільки на зимовий період (від початку листопада до кінця квітня) і розміщення при вході відповідної інформації на цю тему.

Лейченко А.

ПОШИРЕННЯ МОЛЮСКІВ РОДИНИ *PHYSIDAE* ПО ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ

Житомирський державний університет ім. І.Франка
вул. Велика Бердичівська, 40, Житомир, 10008, Україна,
alla.leichenko@mail.ru

Особливості поширення пухирчикових досліджено у межах семи найважливіших річкових басейнів України − Західного Бугу, Дністра, Дунаю, Південного Бугу, Дніпра, Сіверського Дінця і річок Криму. Ця група тварин поширена в усіх ландшафтно-кліматичних зонах України.

У межах її одним із найширше розповсюджених видів пухирчикових є *Physa fontinalis* (Linné, 1758) – палеарктичний вид (загальний ареал його охоплює Європу і північну частину Азії). На сьогодні відмічений нами у басейнах усіх великих річок України, крім Південного Бугу. Звичайний вид для водойм Українського Полісся і Лісостепової зони. Натомість у водоймах Степової зони трапляється лише зрідка. Розповсюджений лише у рівнинних і передгірських місцевостях (до 500 м н.р.м.).

Близький до *Ph. fontinalis* вид − *Ph. adversa* (Costa, 1778) (палеарктичний вид). Його відмічено у басейнах Західного Бугу, Дністра, Дунаю, Дніпра і Сіверського Дінця. Ареал його поширення на території України охоплює Українське Полісся і Лісостепову ландшафтно-кліматичну зони. А от у Степовій зоні знайти його нам не вдалося. Поширена *Ph. adversa* виключно у водоймах рівнинних місцевостей. І хоча цей вид виявлено і у Прикарпатті (р. Мощанка, Мощани Львівської обл.), і на Буковині (р. Малий Сирет, Старий Вовчинець Чернівецької обл.), але теж, як і *Ph. fontinalis*, не вище 500 м н.р.м.

У 2002 р. американський малаколог Д. Тейлор під час участі в роботі І Міжнародної малакологічної конференції (15−18 травня 2002 р., м. Житомир) «Молюски. Основні результати, проблеми та перспективи досліджень» виявив в околицях Житомира північноамериканський описаний ним же (Taylor, 1954) вид *Ph. skinneri* (Taylor, Sitnikova, 2004). Це була перша знахідка цього молюска на території України. Пізніше (2002−2006) М.О. Сон (Сон, 2007) відмітив *Ph. skinneri* у басейні Північного Причорномор'я (з Дністра, Дуная, Дніпра). Ми зареєстрували його лише раз − на заході України (р. Серет, Тернопіль).

У водоймах нашої країни поширений північноамериканський вид − *Physella acuta* (Draparnaud, 1805). Його відмічено у всіх річкових басейнах України, розміщених на території Українського Полісся, Лісостепової і Степової зон. Відсутній у гірських та передгірських ділянках Карпат.

Недавнім вселенцем у прісні водойми України є *Phys. heterostropha* (Say, 1817). Вперше його відзначено М. О. Соном у 2001 р. в Одесі (у штучних озерах). Він поширений у басейнах пониззя Дунаю, Дністра, Дніпра і на Південному березі Криму. Цей вид нами вперше відмічений у басейнах Південного Бугу (Южноукраїнськ Миколаївської обл.) і Сіверського Дінця (Станично-Луганське Луганської обл.; Миколаївка Донецької обл.). Відсутній у гірських та передгірських ділянках Карпат. Його ареал у межах регіону досліджень охоплює Українське Полісся, Лісостепову і Степову зони.

Найрідкіснішим видом серед пухирникових України є *Costatella integra* (Haldeman, 1841). Це вид американського походження, близький до *Phys. acuta* і *Phys. heterostropha*. Відмічений нами у басейнах Дністра і Сіверського Дінця, хоча раніше його знаходили у басейнах Західного Бугу, Дунаю, Південного Бугу, де на сьогодні він відсутній. Загалом же ареал *C. integra* на території України охоплює Лісостепову і Степову зони.

Результати наших досліджень свідчать, що найбільш розповсюдженим видом на території України є *Ph. fontinalis*. Інших же представників родини *Physidae* можна об'єднати у дві групи: ті, які поширені у південній частині нашої держави (*Phys. acuta*, *Phys. heterostropha*, *Ph. skinneri*), і ті, які поширені у північній її частині (*Ph. adversa*).

Масловський О.[1], Тафійчук Р.[2], Лєснік В.[1]

ПАРАЗИТОФАУНА РОТАНА (PERCCOTTUS GLENII DYBOWSKI) У ВОДОЙМАХ ЗАХОДУ УКРАЇНИ

[1]Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
[2]Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького,.
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010 Україна
unsanya@yandex.ru

Із включенням головешки амурської до нових фауністичних угруповань ряд іхтіологів констатують факт зміни складу місцевої іхтіофауни, а також зміни у трофічних ланцюгах, і поведінці тварин, життя яких пов'язане із водоймами.

Інтенсивний розвиток сучасного рибництва неможливий без еколого-паразитологічного моніторингу паразитозів риб. Тому особливо актуальним є питання вивчення паразитофауни риб-вселенців як можливих джерел нових інвазійних хвороб для об'єктів аквакультури. Об'єктом наших досліджень була вибрана головешка амурська (ротан), батьківщиною якої є річка Амур на Далекому Сході.

Дослідження паразитофауни головешки амурської проводили у періоди, коли водойми не вкриті льодом. У цей період здійснювали відлов представників головешки амурської і опрацювання зібраного матеріалу із водойм Львівської та Івано-Франківської областей. Рибу відловлювали за допомогою малькового сачка-пастки з вічком 4 мм, підсачика з вічком 10 мм та поплавцевими вудочками. Для повного дослідження паразитофауни відбирали ще живу та найменш пошкоджену риболовецькими знаряддями рибу. Паразитологічні дослідження проводили, згідно з методиками Скрябіна (1958), Маркевича (1960) та Быховская-Павловская (1969). Спочатку досліджували морфометричні показники риб, тоді ж відбирали луску для визначення віку. Потім проводили клінічний огляд риб і повний паразитологічний розтин. Знайдених паразитів вилучали й фіксували для подальшого визначення. Для мікроскопування використовували бінокуляр МБС-9.

З кожного місця відлову риб розраховували показник екстенсивності інвазії. Найбільшу екстенсивність інвазії відмічено у вибірках із р. Верещиця – 57% із 54 екземплярів. У результаті проведених нами досліджень виявлено паразити чотирьох видів, а саме: з поверхні тіла нами було вилучено *Trichodina* sp., на зябрових тичинках було ідентифіковано інших представників роду *Trichodina* sp із очей вилучено метацеркарії *Diplostomum* sp. Проте найбільш численним видом багатоклітинних паразитів був вилучений із кишечника представник класу Trematoda, який є паразитом роду *Crepidostomum*. Було визначено, що це *Crepidostomum farionis* Mueller 1780. Нами не знайдено літературних даних щодо паразитування цього паразита у ротана. Ця трематода є типовим паразитом прісноводних хижих риб в основному ряду Perciformes. *C. farionis* паразитує у річках Карпат і Прикарпаття, водоймах басейнів Чорного та Каспійського морів. Серед відомих 28 видів паразитів, що формують паразитофауну ротана, *C. farionis* нами знайдено вперше.

Отже, встановлено, що паразитофауна ротана в західному регіоні України є досить бідною порівняно з паразитами у межах природного ареалу і поповнюється новими видами паразитів, які характерні для місцевої іхтіофауни. Тому риби-інтродуценти мають великий потенціал щодо свого розселення на нові території, оскільки паразити, які є вагомим фактором регуляції чисельності, запізнюються з проникненням у нові середовища існування інтродукованих видів риб.

Рибка К.

ЗООГЕОГРАФІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА НАЗЕМНИХ МОЛЮСКІВ МІСТА ЧЕРВОНОГРАДА ТА ЙОГО ОКОЛИЦЬ

Інститут екології Карпат НАН України
вул. Козельницька 4, м. Львів, 79026, Україна
katerina-rybkaO@rambler.ru

Сучасну фауну черевоногих молюсків аналізували у межах міста Червонограда та в його околицях (с. Добрячин, м. Соснівка). Видовий склад визначали на підставі ревізії фондових колекцій Державного природознавчого музею НАН України (ДПМ), власних зборів і польових досліджень, а також аналізу літературних даних (Байдашников, 1992; Лихарев, Раммельмейер, 1952).

Розподіл видів на зоогеографічні групи виконували шляхом використання класифікацій різних авторів з урахуванням літературних даних щодо їхнього географічного поширення (Сверлова, Гураль 2004; Kerney et al, 1983).

За даними ревізії фондової колекції ДПМ (черепашкові види) та власних матеріалів (черепашкові та безчерепашкові види) на досліджуваній території зареєстровано 26 видів наземних молюсків.

Групу голарктичних видів становлять *Oxyloma elegans* (Risso), *Cochlicopa lubrica* (Mull.), *Vallonia pulchella* (Mull.), *Pupilla muscorum* (L.), *Zonitoides nitidus* (Mull.).

У групі палеоарктичних видів - *Nesovitrea hammonis* (Strom); європейсько-сибірських - *Succinea putris* (L.), *Succinella oblonga* (Drap.), *Pseudotrichia rubiginosa* (A. Schm.), *Chondrula tridens* (Mull.).

Європейський тип ареалу мають (Сверлова , Гураль 2004; Kerney et al., 1983). *Arion subfuscus* (Drap.), *Trichia hispida* (L.), *Lacinaria plicata* (Drap.), *Monacha carthusiana* (Mull.), *Cepaea vindobonensis* (Feru.), *Helix lutescens* (Ross), *Limax maximus* (L.), *Deroceras leave* (Mull.), *Aegopinella minor*, *Anon fasciatus* (Nilss.), *Bradybaena fruticum* (Mull.), *Euomphalia strigella* (Drap.), *Cepaea hortensis* (Mull), *Helicopsis striata* (Midi), *Helicella candicans* (L.Pfr.), *Helix pomatia* (L).

Таким чином, структура фауни виглядає так: голарктичні види - 5 (19,2 %), палеоарктичні - 5 (19,2 %), європейські - 16 (61,6 %). Фауна наземних молюсків також збагачується завдяки антропохорії, роль якої закономірно посилилась у другій половині XX ст. На дослідженій території зареєстровано західно- та середньо-європейський вид *C. hortensis* (Mull) (Сверлова, Гураль 2004). Природний ареал *Limax maximus* (L.) займає переважно гірські райони Західної та Південної Європи. Вид *Monacha carthusiana* (Mull.) трапляється у межах природного ареалу на півдні України, а з кінця XIX ст. з'явилися інтродуковані популяції на Заході України. До групи антропохорних видів можна зачислити також синантропного слизняка *A. fasciatus* (Nilss.). Більшості цих видів не було зареєстровано на дослідженій території ще наприкінці XIX ст.

Рогуля А.

ОСОБЛИВОСТІ ОСІННЬОЇ МІГРАЦІЇ МАРТИНА ЗВИЧАЙНОГО В ЗАКАЗНИКУ “ЧОЛГИНСЬКИЙ”

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
avosetta@ukr.net

Перед собою ми поставили завдання дослідити чисельність мартинів звичайних (Larus ridibundus L.) у заказнику “Чолгинський” протягом 1995 – 2002 рр.

Для встановлення чисельності мартинів заказника “Чолгинський” ми використовували методики описані А. П. Савченком (1991). Це денні спостереження з стаціонарного пункту і маршрутні обліки. Птахів спостерігали в основному неозброєним оком, або ж використовували біноклі різної кратності, найчастіше БПЦ 10*50. Всі дані заносилися у польовий щоденник і в подальшому оброблялися. Для проведення спостережень ми використовували метод пентадних обліків Bird station manual (Busse, 2000). Обліки велися протягом всього часу – двічі на пентаду, а в серпні під час роботи табору по вивченню міграцій та орієнтації птахів ”AVOSETTA” – щоденно.

Мартин звичайний - один з найбільш чисельних видів мартинів заказника “Чолгинський” у всі роки періоду досліджень цих птахів. Тут вони зустрічаються на гніздуванні, а також багаточисельні під час літньо-осінньої міграції. Щодо перебування цього виду мартинів у заказнику, то тут протягом кожного року з 1995-го по 2002-й рік спостерігаються певні закономірності в динаміці їх чисельності під час літа і до початку відльоту, хоча є і певні відмінності. Але проаналізувавши облікові дані ми можемо сказати, що було 3 основних піки чисельності мартинів звичайних у заказнику “Чолгинський”. Перший пік припадав в середньому на 48 пентаду (24-28 серпня), після чого в 49-50 пентаді (29 серпня – 7 вересня) чисельність спадала. У 51-52 пентаді (8 - 17 вересня) спостерігався 2-й пік чисельності, спад протягом 53-58 пентади (18 вересня – 17 жовтня), і останнє стрімке підвищення – у 59-60 пентаді (18 – 27 жовтня). Перші два піки зростання чисельності цих мартинів пояснити важко, через те що такі зміни могло спричинити безліч факторів, це зміна погодніх умов, кормо-

вої бази, міжвидова конкуренція за кормові ресурси, пошук інших, більш сприятливих біотопів. Зростання чисельності протягом 18 – 27 жовтня (3-й пік) ми пов'язуємо з утворенням більших зграй мартинів безпосередньо перед відльотом цих птахів.

Дати, на котрі припадають піки прольоту, від сезону до сезону змінюються незначно, але "потужність" прольоту змінюється щороку. Це пояснюється різними погодніми умовами під час міграції, а також кількістю молодих птахів, що піднялися на крило.

Динаміка чисельності під час міграції характеризується приблизно однаковими коливаннями у різні роки. Для мартина звичайного піки чисельності припадають в середньому на 48 пентаду – перший пік, 51-52 – другий, 59-60 – третій.

Сачок О.

КОМАХИ-ЗАПИЛЮВАЧІ *ARNICA MONTANA* L. (ASTERACEAE) В ЧОРНОГОРІ (УКРАЇНСЬКІ КАРПАТИ)

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул.. Грушевського 4, Львів, 79005, Україна
oksachok@rambler.ru

Під час вивчення механізмів функціонування фітоценозів, особливого значення набувають дослідження механізмів розмноження їхніх компонентів, а зокрема такого важливого фактору як запилення рослин (Фегрі ,Пейл, 1982). Вивчення екології запилення рослин комахами є актуальним для встановлення механізмів самовідновлення і розмноження рослин. Перенесення пилку та перехресне запилення квіткових рослин – одна з найвидатніших і, як тепер з'ясовано, древніх функцій комах у природі (Грінфельд, 1978). Види-запилювачі представляють найширший екологічний спектр організмів. Це може свідчити про значну привабливість рослини для комах саме завдяки генеративній сфері, яка продукує нектар і пилок.

Дослідження впливу комах-запилювачів на рідкісні види рослин нами були розпочаті у високогір'ї Українських Карпат (північний макросхил Чорногори). Діапазон висоти над рівнем моря досліджуваних ділянок коливається від 1300 м. над рівнем моря (верхня межа лісу) до 1700 м. над рівнем моря.

Об'єктом наших досліджень було обрано Arnica montana L.(Asteraceae). Це вид, широко поширений в Карпатах (дуже рідко на Поліссі). Зростає на полонинах, лісових луках, узліссях і галявинах. В горах піднімається до альпійського поясу. У Карпатах часто утворює розріджені зарості, особливо на лісових сінокісних лугах і узліссях. Арніка гірська - багаторічна трав'яниста рослина, з майже горизонтальним, циліндричним, слабо розгалуженим кореневищем до 10-15 см завдовжки, зовні темно-коричневим. Стебло одне (рідше кілька) висотою до 60 см, залозисто-опушене. Цвіте в червні - липні. Плоди дозрівають у липні – серпні.

У якості основного методичного прийому для дослідження комах-запилювачів *Arnica montana L. (Asteraceae)* було використано візуальне спостереження, також була використана методика ручного збору і вибіркового вилову ентомологічним сачком із чітко встановленими розмірами. Відбір польового матеріалу здійснювався протягом теплого періоду року з червня по липень у 2010 році.

Найбільш поширеною формою впливу на генеративне розмноження рослин є їхнє запилення комахами. Як приклад розглянемо опилювачів Arnica montana L. (Asteraceae). Основними запилювачами арніки гірської були сирфіди (Syrphidae, Diptera): Myiathropa florea (Linnaeus, 1758), Eristalis tenax (Linnaeus, 1758), Eristalis jugorum Egger, 1858, Eristalis rupium Fabricius, 1805. Відвідування арніки іншими комахами – лускокрилими, перетинчастокрилими, іншими двокрилими були поодинокими. Менша кількість інших комах на рослині може бути пов'язана з різною щільністю особин *A.montana (L)* на різних досліджуваних ділянках. Найбільшою щільністю особин рослин і частотою відвідування комахами характеризувалась ділянка, що була розташована по дорозі на о.Несамовите, на західному макросхилі хребта в котлі між г.Брескул та Пожижевська біля Брескулського потоку на висоті 1650 м.н.р.м., а

найменша щільність особин рослин і частота відвідування комах була пов'язана з висотним розташуванням популяцій рослин на західному схилі гори Пожижевська на висоті 1710 м.н.р.м. Найбільшою частотою відвідування відрізнявся вид Eristalis tenax (Linnaeus, 1758).

З'ясували, що найбільше різноманіття запилювачів особин цього виду є під час фази цвітіння (червень-липень). Це може свідчити про значну привабливість рослини для них саме завдяки генеративній сфері. В активному процесі запилення безпосередньо брали участь в основному мухи-дзюрчалки. Саме вони, очевидно, можуть відігравати ключову роль у обміні генетичним матеріалом між популяціями і їх локусами, впливаючи на їхню продуктивність і відповідно підтримувати життєздатність популяції арніки гірської.

Скок Т.

МІРНІ ЗМІНИ ГОНОДУКТА ТА ГІСТОЛОГІЇ ГОНАДИ ПРІСНОВОДНИХ МОЛЮСКІВ (GASTROPODA: PULMONATA: LYMNAEIDAE, BULINIDAE) В УМОВАХ РІЗНИХ ПРИРОДНО-КЛІМАТИЧНИХ ЗОН УКРАЇНИ У ВЕСНЯНИЙ ТА РАННЬОЛІТНІЙ ПЕРІОДИ

Житомирський державний університет імені Івана Франка
вул. Велика Бердичівська, 40, м. Житомир, 10008, Україна
super_skok@mail.ru

Прісноводні молюски відіграють значну роль у підтримці стабільного хімічного складу водних екосистем та підвищенні їх самоочисних властивостей, у перетворенні й колообігу речовин та енергії, у поширенні трематодозів серед хребетних тварин. Їх значущість визначається чисельністю популяцій, а отже, інтенсивністю розмноження і тривалістю життя особин (їх життєвими циклами). Дослідження життєвих циклів є неможливим без встановлення мірних та гістологічних змін статевої системи.

Матеріалом дослідження слугували 169 екз. ставковиків озерних (Lymnaea stagnalis Linné, 1758) та 134 екз. витушок рогових (Planorbarius corneus Linné, 1758) із різних ландшафтно-кліматичних зон України: лісової Поліської (р. Гуйва, Пряжево Житомирської обл.; озеро, Сонячне Житомирської обл.; р. Очеретянка, Черняхів Житомирської обл.), Лісостепової (озеро, Іква Тернопільської обл.; р. Устя, Здолбунів Рівненської обл.; р.Тясмин, Сміла Черкаської обл.) та Степової (р. Інгулець, Садово Херсонської обл.).

Аналізуючи гістологічні зрізи, ми дійшли висновку, що в гермафродитних залозах особин з початку квітня (якщо пізня весна) активно відбуваються спермато- та вітелогенез. Однак у ранньоквітневих особин траплялися випадки відсутності ооцитів: у дорослих ставковиків (р. Тясмин, Сміла, Черкаської обл.; висота черепашки 2,8 мм) і витушок з діаметром черепашки 3,4 мм (р. Інгулець, Садово Херсонської обл.). Можливо, це пов'язане з фіксацією цих тварин безпосередньо у момент виходу їх зі стану анабіозу. Це дозволяє припустити, що в їхніх статевих залозах восени минулого року домінував сперматогенез. Траплялися також випадки відсутності ооцитів у гонадах витушок з Полісся з діаметром черепашок 2,0–2,4 мм у травні, проте ці особини були інвазовані трематодами, які, як відомо (Sluiters, Gerearts, 1984; Березкина, Старобогатов, 1988), порушують процеси гаметогенезу.

Відомо (Berrie, 1966; Круглов, 1980 та ін.), що впродовж зими і рано навесні жіночі залозисті органи легеневих молюсків є більш цупкими і компактними, а до середини літа вони збільшуються в розмірах і диспропорція в розвитку чоловічих і жіночих геніталій зникає. Наш експеримент, заснований на щомісячних промірах статевих органів тварин, засвідчує, що як у ставковиків, так і у витушок з усіх ландшафтно-кліматичних зон України до початку літа жіночі геніталії майже не змінюються у розмірах порівняно з квітневими пробами, простата ж стає більш крупною. Винятком стали витушки з Поліської природної зони, у яких обидва відділи статевої системи до початку літа функціонально активізувались. З'ясовано також, що чим більше наповнений сім'яприймач – тим більших розмірів набувають залозисті органи жіночого відділу (білкова, нідаментальна залози, матка). Більш чітко ця закономірність про-

стежується у ставковиків з усіх точок збору порівняно з витушками. Це підтверджує припущення низки авторів (Horstmann, 1955; Круглов, Березкина, 1976, 1978; Березкина, Старобогатов, 1988 та ін.) щодо гаметолітичної функції сім'яприймача (накопичена аллосперма гуморально ініціює овогенез).

На функціонування статевої системи негативно впливає трематодна інвазія. Навіть за невисокої інтенсивності її в ураженій гермафродитній залозі порушується гаметогенез (у першу чергу – вітелогенез), уповільнюється ріст жіночих, рідше – чоловічих придаткових органів. На початку червня нерідкими були випадки (27,2%) повної дегенерації білкової та шкаралупової залоз, матки і простати у витушок з Лісостепової зони. У 5% обстежених ставковиків з цієї ж зони (інтенсивне зараження трематодами) атрофовані білкова та шкаралупова залози, ще у 5% до того ж редукована і матка.

Стельмащук Н.

АНАТОМІЯ СТАТЕВОЇ СИСТЕМИ FAGOTIA ACICULARIS (MOLLUSCA: PECTINIBRANCHIA: MELANOPSIDAE)

Житомирський державний університет імені Івана Франка
вул. Велика Бердичівська, 40, м. Житомир, 10008, Україна
natalya_stelmashchyk@mail.ru

Чорнушкові – прісноводні м'якуни на Правобережній Україні. Для систематики цієї родини значення мають деталі будови деяких відділів їх статевої системи. Щодо *Fagotia acicularis* (Férussac, 1823) – чорнушки загостреної, подібні відомості відсутні.

Матеріал дослідження: власні збори молюсків (40 екз.) з р. Случ (Городниця, Курчиця, Новоград-Волинський Житомирської обл.), здійснені у травні-червні 2010 р. Препарування фіксованих в 50%-му етиловому спирті об'єктів проводили за традиційною методикою (Круглов, 2005).

Ці молюски роздільностатеві, з чітко вираженим статевим диморфізмом: у самок висота черепашки (одновікові із самцями особини) більша в 1,3 рази. Крім того, середнє значення співвідношення висоти черепашки до її ширини у самців 2,5, а у самок – 2,7. У гребінчастозябрових м'якунів гонодукт зазвичай формують гонадіальний, ренальний, паліальний, бурсальний та цефалоподіальний відділи (Анистратенко, Анистратенко, 2001). Паліальний відділ жіночої статевої системи утворюється з двох поздовжніх складок (Миничев, Старобогатов, 1979). Паліальний гонодукт у самок не замкнений, на правій стороні ноги є крупний овопозитор (Binder, 1959). Бурсальний відділ попервах залягає в задній стінці мантійної порожнини, але потім, у процесі розвитку, добудовується трубками паліального походження. На початку паліального відділу яйцеводу (на межі з ренальним чи відповідно з гонадіальним відділом) в нього впадає копулятивна сумка. Ренальний відділ – це видозмінений правий целомодукт, який редукується та перетворюється в подальшому на дистальний відділ статевої протоки (Анистратенко, Анистратенко, 2001).

Чоловіча статева система *F. acicularis* включає сім'яник, сім'япровід, сім'яний міхурець, простату і копулятивний орган. Сім'яник витягнуто-овальної форми, альвеолярної будови, займає значну частину гепатопанкреаса. Він відкривається у тонкий і довгий сім'япровід. Від сім'япровода вбік у вигляді округлого жолобка відходить сім'яний міхурець. На думку більшості малакологів (Березкина, Старобогатов, 1988; M. Yildrim, 1999), основна його функція – довготривале збереження життєздатності сперматозоїдів. Далі сім'япровід заходить у мантійну порожнину і сильно розширюється за рахунок простати. Вона еліптичної, овальної, часом ниркоподібної форми, фолікулярної будови. Стінка її утворена одношаровим епітелієм, до складу якого входять миготливі та залозисті клітини. Секрет простати активізує запліднюючу здатність сперматозоїдів. Передній кінець простати різко звужується і переходить у тонку трубку сім'япровода, яка пронизує копулятивний орган, розміщений на голові за правим щупальцем. Копулятивний орган прямий, циліндричний, рівномірно звужений до вільного кін-

ця. При паруванні він витягується і виступає вперед. В інший час цей орган завернутий назад і розміщується в мантійній порожнині.

Жіноча статева система включає яєчник, яйцепровід, білкову та шкаралупову залози і сім'яприймач. Яєчник (він один) еліптичний або ланцетоподібний, фолікулярної будови, лежить на другому-третьому обертах нутряного мішка. Він відкривається у вузький і довгий, покручений канал – яйцепровід. Вбік від нього відходить сліпа сумка, утворена одношаровим залозистим епітелієм – білкова залоза. Вона ниркоподібна, фолікулярна за структурою, стінки її утворені залозистим епітелієм. Шкаралупова залоза майже така ж за розмірами, як і білкова, займає праву половину мантійної порожнини. Секрет її формує капсульну оболонку яєць. Сім'яприймач грушеподібний. Протока його вузька. Основна функція сім'яприймача – накопичення копулятивної сперми партнера.

Струс Ю., Шидловський І.

МІГРАЦІЯ БРИЖАЧА (*PHILOMACHUS PUGNAX* L.) В ОРНІТОЛОГІЧНОМУ ЗАКАЗНИКУ «ЧОЛГИНСЬКИЙ»

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
yurastrus@gmail.com

Брижач *Philomachus pugnax* L. (Aves: Charadriformes: Scolopacidae) на більшій частині території України є звичайним пролітним видом. На Поліссі вид гніздиться у невеликій кількості (Фесенко, Бокотей, 2002, Hagemeijer, Blair, 1997), проте достовірно цей факт не доводили з 1967 р. Згідно європейської природоохоронної значимості вид належить до категорії Spec 4, статус загрози S (P).

Міграціям птахів присвячена велика кількість досліджень. В Україні вони, переважно, не систематичні і як правило являють собою спостереження за перебігом міграції (фенологія та динаміка прольоту). Лише в кількох пунктах країни ведуться систематичні багаторічні дослідження міграцій. Знання термінів та механізму проходження міграції куликів має значення для їх охорони та визначення природоохоронного режиму територій виключених з господарського користування. При достатній кількості біометричних даних можна судити про підвидову та расову приналежність досліджуваних птахів.

Обліки під час міграції проводили по пентадах весною та в літньо-осінній період (липень – листопад) з 1995 р. по 2009 р., підраховуючи абсолютну чисельність птахів у заказнику, переважно в першій половині дня.

Відловлювали куликів протягом 1995-2009 рр. (крім 2006) стандартними тунельними пастками на мілководді відстійника, перевіряючи їх кожні 2 години від сходу до заходу сонця. У відловлених птахів визначали стать та вік (Prater at al., 1977), вимірювали довжину крила (Кр.) (Evans, 1986), довжину цівки (Ц) (Svensson, 1992), повну довжину голови (ПДГ) (Green, 1980), довжину дзьоба до оперення (Дз) та до ніздрі (Дзн) (Prater at al., 1977). Динаміку міграції оцінювали за методикою Busse (1995). Статистичну обробку даних проводили в Microsoft Excell та Statistica 6.0.

Нами було відловлено 137 особин брижачів: 104 самки (81 молоді, 20 дорослі, 3 льотні), 33 самці (26 молодих, 6 дорослих). Співвідношення статей (самки/самці) серед молодих особин – 3,23, дорослих – 3,33, що є підтвердженням полігамності виду.

У брижачів добре виражений статевий диморфізмм у розмірах тіла, самці значно більші за самок.У молодих самок були такі біометричні показники в мм: Кр. – 159,2±0,3, σ = 2.7, n = 81; Ц – 42,2±0,2, σ = 1,6, n = 81; Дз – 31,1±0,1, σ = 1,2, n = 81; Дзн = 24,6±0,1, σ = 0,9, n = 53; ПДГ – 61,7±0,2, σ = 1,4, n = 81; хвіст – 59,0±0,6, σ = 4,1, n = 44; вага 98,5±1,5, σ = 13,0, n = 75. Дорослі самки: Кр. – 160,9±0,5, σ = 2,3, n = 20; Ц – 42,5±0,3, σ = 1,3, n = 20; Дз – 31,3±0,3, σ = 1,3, n = 20; Дзн = 24,8±0,5, σ = 0,8, n = 3; ПДГ – 61,8±0,3, σ = 1,2, n = 20; хвіст – 54,7±2,2, σ = 3,8, n = 3; вага 106,5±3,3, σ = 14,9, n = 20. Біометричні проміри молодих самців: Кр. – 189-

,9±0,7, σ = 3,4, n = 23; Ц – 50,7±0,5, σ = 2,6, n = 23; Дз – 34,9±0,6, σ = 2,7, n = 23; Дзн = 28,1±0,6, σ = 2,2, n = 15; ПДГ – 70,9±0,3, σ = 1,3, n = 23; хвіст – 68,1±1,2, σ = 4,1, n = 11; вага 147,8±6,5, σ = 33,9, n = 3. Проміри дорослих самців: Кр. – 162,0±6,2, σ = 15,2, n = 6; Ц – 48,3±2,3, σ = 5,4, n = 6; Дз – 34,2±1,5, σ = 3,6, n = 6; ПДГ – 68,4±2,2, σ = 5,5, n = 6; вага 154-,0±14,9, σ = 36,6, n = 6. Ми проаналізували вибірки на предмет їх подібності тестом Мана-Уітні і виявили, що є статистично достовірна різниця у довжині крила між молодими самками і дорослими (U=504.5, z = -2.60, p<0.01) та між молодими й дорослими самцями (U = 32.5, z = 1.965, p < 0.05).

Найраніше спостереження, в час весняної міграції, 10.03.1999 р. (45 ос.), найпізніше – 26.05.2002 р. (31 ос.). Брижачі регулярно трапляються в заказнику з третьої декади квітня до третьої декади травня. В динаміці міграції можна виділити два піки: в кінці березня – початку квітня і в кінці квітня – на початку травня.

Осіння міграція брижача в заказнику починається в другій декаді червня. Найраніше спостереження 18.06.1998 р. – 2 ос. Міграція виду восени має дві хвилі, під час першої - чисельність брижачів зростає з кінця червня до середини липня (пік 14.-15.07 – 66 особин у 1995 р.) і потім поступово спадає. Друга хвиля починається на початку серпня і триває до початку жовтня, з піком наприкінці серпня – початку вересня. Після масового прольоту брижачі ще трапляються в заказнику протягом жовтня, але в невеликих кількостях. Останніх птахів цього виду ми спостерігали 24.10.2008 р. – 2 особини.

Jamska K.

THE WILD OCCUPANT

Faculty of Biological Sciences, University of Zielona Góra
Ul. Prof. Z. Szafrana 1, 65-516 Zielona Góra, Poland
karolcia-szkola@wp.pl

One of the remains of communist system in Poland is a huge number of grey blocks of flats, made out of the large plates. They are not attractive for people but animals found them very useful. The most common wild occupants are bats and birds. They use every little slot and crack as a breeding ground or shelter. All these animals are protected by law. In the last few years we could observe a lot of thermo modernization works of the old buildings. Unfortunately investors don't respect the wildlife conservation law and perform these works during breeding season even if the animals inhabit the building. This is the cause of death of thousands animals every year. Some of NGO organizations started to react and they collect the evidence, educate society, investors and building contractors and try to change the local law. This is a difficult process and it takes a lot of time to change mind-set. There is still a lot of black wholes on the map, where nobody takes care of wild occupants. This is the reason why we decided to act also in Zielona Góra and start project "The wild occupant" within the confines of The Biologist Scientific Union of University of Zielona Góra. There is still a lot of buildings which are not renovated, so we have possibility to innovate in the renovation industry.

I want to present the general conflict between wildlife conservation and human aspirations and ways to solve the problem - good for people and safe for animals.

ІНТРОДУКЦІЯ РОСЛИН / PLANTS INTRODUTION

Сосновський Є.

М'ЯКА НЕСПРАВЖНЯ ЩИТІВКА НА ТРОПІЧНИХ І СУБТРОПІЧНИХ РОСЛИНАХ У БОТАНІЧНОМУ САДУ ЛНУ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

Львівський національний університет імені Івана Франка, Ботанічний сад
вул. Черемшини, 44, м. Львів, 79014, Україна
botsad@franko.lviv.ua

М'яка несправжня щитівка – *Coccus hesperidum* L. (*Homoptera*, *Coccidae*) – один із найбільш поширених і спеціалізованих видів комах-фітофагів, ареал якого охоплює теплі й помірні зони всіх континентів. На території України трапляється переважно у захищеному ґрунті, заселюючи більше 160 видів рослин (Чумак, 2004). Широка поліфагія та екологічна пластичність виду зумовлюють необхідність значної уваги до нього щодо вивчення його біології та екології, проведення постійного моніторингу його чисельності і трофічних зв'язків. Дослідження проводили в оранжереях і теплицях Ботанічного саду ЛНУ ім. Івана Франка впродовж 2007-2010 років.

М'яку несправжню щитівку виявлено нами на 53 видах рослин узахищеному грунті із 35 родів, 30 родин, 5 класів і 3 відділів – *Polypodiophyta*, *Pinophyta* та *Magnoliophyta*. Серед папоротеподібних комаха заселює лише 3 види рослин (11,5% від вирощуваних у колекції) із родин *Aspidiaceae*, *Nephrolepidaceae* та *Polypodiaceae*, серед голонасінних – 4 види (20,0%) із родин *Cycadaceae*, *Pinaceae* та *Podocarpaceae*. Найбільша частка видів серед заселених фітофагом рослин (86,8%) належить до покритонасінних, із яких дводольні становлять84,8%, однодольні, відповідно, – 15,2%. Загалом, комаха трапляється на 3,6% видів покритонасінних від вирощуваних у колекції, для дводольних і однодольних цей показник становить відповідно 5,8 та 1,2%. На 40 видах рослин несправжня щитівка виявлена у комплексі з іншими видами членистоногих -фітофагів, решта рослин (24,5%) заселюються лише нею. Ступінь заселення всіх рослин м'якою несправжньою щитівкою коливається у межах 1-3 балів (за шкалою П.Я.Чумака (2004)). Дводольні рослини, на яких виявлено фітофаг, представлені 18 родинами, серед яких найбільша кількість заселених комахою видів належить до родини *Moraceae* (10 видів, 32,3% від загальної кількості видів цієї родини у колекції), зокрема роду *Ficus* L. Значно менше кормових рослин несправжньої щитівки виявлено у родинах *Begoniaceae* (5 видів, 25,0%), *Euphorbiaceae* (4 види, 12,9%), *Rutaceae* (3 види, 42,9%) тощо. Серед однодольних фітофаг трапляється на 7 видах рослин із 6 родин: *Amaryllidaceae*, *Araceae*, *Arecaceae*, *Asparagaceae*, *Ruscaceae* та *Zingiberaceae*. На більшості видів рослин фітофаг при заселенні надає перевагу листкам середнього та верхнього ярусу, причому розміщується переважно на адаксіальній поверхні листкової пластинки вздовж центральної жилки. На деяких рослинах особини містяться виключно на абаксіальній поверхні листків або на обох поверхнях та черешках і нездерев'янілих частинах стебла.

Варто зазначити, що необхідною ланкою створення інтегрованої системи захисту рослин від потенційних шкідників є проведення постійного моніторингу видового складу та чисельності їхніх природних ворогів, які виступають одним із головних чинників утримання середньої чисельності фітофагів нижче порога шкодочинності. У ході досліджень в колоніях м'якої несправжньої щитівки нами виявлено 1 вид ентомопатогенних грибів і 3 види паразитичних перетинчастокрилих комах. Гриб *Cephalosporium lecanii* Zimm. (*Deuteromycetes*, *Moniliales*, *Moniliaceae*) виявлявили епізодично, що свідчить про незначну його роль у регуляції чисельності фітофага на даній території. Дослідження ефективності комах-їздців щодо цього показало, що серед 3-х їхніх видів – *Coccophagus lycimnia* Walk. (*Aphelinidae*), *Encyrtus lecaniorum* Mayr. та *Microterys flavus* How. (*Encyrtidae*) – найбільшу частку особин фітофага (87,3±8,2%) у колоніях на різних рослинах заражує третій вид, тоді як ефективність перших двох сягає 48,7±1,2 та 8,7±1,2% відповідно.

Таким чином, м'яка несправжня щитівка є одним із найбільш поширених фітофагів у захищеному ґрунті Ботанічного саду ЛНУ ім. Івана Франка, проте середня чисельність фітофага на рослинах порівняно невисока, що досягається, крім іншого, діяльністю комплексу ентомофагів.

Шевців Р., Прокопів А.

ПРОБЛЕМА ЗБЕРЕЖЕННЯ ДАВНІХ СОРТІВ ЯБЛУНЬ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Черемшини, 44, м. Львів, 79005, Україна
botsad@franko.lviv.ua

Збереження природничо-культурного надбання потребує охорони і введення в культуру старих сортів плодових дерев. Сьогочасні намагання отримати великі врожаї призводять до збіднення різноманіття культурних форм і передусім місцевих сортів, що пройшли випробування часом. Виявлення у колективних господарствах і приватних садибах давніх (старих) сортів, що не поступаються, а навпаки переважають за смаковими якостями сучасні сорти іноземної селекції та є толерантними до хвороб і шкідників дозволить створити не лише базу даних але й колекційний сад (розсадник), в якому будуть акумульовані культивари, що за інших умов можуть бути безповоротно втрачені.

Дані завдання актуальні та важливі з огляду на збереження фіторізноманіття культурних форм та їх генофонду. В ході спостережень за плодовими деревами, зокрема яблунями, в західних областях України вдалося виявити, облікувати і перенести до колекційного саду більше сорока сортів яблунь, що здавна культивувалися на цій території. Якщо частина виявлених сортів ще достатньо часто трапляються в садах, а саме Коричне смугасте, Кулон-китайка, Саблук зелений і червоний, Кандиль-китайка, Астраханське біле і червоне, Яндиківське, Аніс яскраво-червоний, Мальт багаєвський, Безнасінна, Одинківське біле, Спасівське, Боровинка, Шафран літній (смугастий), Малинівка, Бельфлер червоний, то чимало інших культиварів лише поодиноко і їх подальше існування залежить від підтримки та збереження осередків їх різноманіття та створення колекційних садів у контрольованих умовах. До таких критичних культиварів варто віднести наступні Винне літнє, Персикове літнє, Ребрак, Білобородівське, Улюблене Вільямса, Вільшанка, Бель абрамівське, Путівка сіре, Вербівка, Кордонівка, Цвинтарка, Апорт літньо-осінній, Московка, Волошкове, Ренет кам`яний, Іванівка, Романець, Гусак, Цитронне, Зорі.

Чимало дерев яблунь старих сортів, що виявлені в ході спостережень знаходяться у незадовільному стані та можуть бути безповоротно втрачені для спеціалістів, якщо їх не вдасться зберегти і перенести у контрольовані умови колекційного саду.

Інвентаризація та подальший пошук старих (забутих) сортів для подальшого розмноження та поширення з метою збереження цікавих та унікальних сортів, що можуть з успіхом бути використані у селекційній роботі та забезпечать збереження різноманіття сортового матеріалу цієї давньої плодової культури.

Jasińska M., Siwulski M., Sobieralski K.

COMPARISON OF MYCELIUM GROWTH OF VARIETIES AND STRAINS OF *PLEUROTUS OSTREATUS* (JACQ. EX FR.) KUMMER ON DIFFERENT SUBSTRATES.

Poznań University of Life Sciences
Ul. Dąbrowskiego 159, Poznań, 60-594, Poland
jasinska.a@gmail.com

Oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* occurs commonly in deciduous forests of Poland, carpophores appear from late autumn till early spring (Ziombra,2002). Growing saprophytically, in clusters on living and decaying stumps. Preferring hardwoods, especially beech, poplar, birch, hornbeam, ash, willow, rowanberry, maple, chestnut, alder less common on fruit trees such as: pear, apple, and stone fruit trees. Mycelium is using for growing substrates rich in cellulose, hemicelluloses and lignins (Sanjeev & Rai,1992). Agricultural wastes such as: straw, corn cobs, chaffs, forestry wastes such as sawdust and bark can be easily used as the cultivation substrates (Stamets,2002; Poppe,2004). Polish growers use wheat and rye straw, which are easily available as a common agricultural wast, and provide high yielding (Ziombra,2002).

The aim of this study was to compare the mycelium growth of 3 varieties and 3 strains of *Pleurotus ostreatus* on different substrates from sawdust (beech and poplar) and straw (wheat and rye).

The varieties were marked as P1, PX and P4, the strains originated from the area of Notec Forest, marked as KR7 – Kulteczek region, BI3 from Biała village and AM12 from Antoniewo.

The linear growth rate of mycelium was measured on after 14 days of incubation in the temperature of 25°C.

The growing rate of the mycelium of examined varieties and strains depended on the type of the substrate and was very different. The best substrates were beech and poplar sawdust, on which average growing speed of examined varieties and strains was the quickest. The strain BI3 demonstrated the fastest growth rate regardless on the substrate type. The growth rate on the poplar sawdust was 11,8 cm, similar growth was found on the beech sawdust (11,4 cm). On the wheat and rye straw substrate it demonstrated significantly worse growing rate – 10,9 cm and 10,3 cm respectively. From all examined varieties and strains the slowest growing rate demonstrated variety PX, rye straw – 9,4 cm, wheat straw 9,2 cm.

The mycelium growth rate is very important cultivation factor. Varieties, which show the quickest mycelium growth, overgrow the substrate very fast and are less exposed to infections caused by pathogenic fungi, ex. *Trichoderma* sp. Earlier investigations show that varieties and strains which indicated faster mycelium growth are yielding better than those with the slower mycelium growth. Our investigation show that strains originated from the natural environment show faster growing rate of the mycelium and is suspected to be valuable genetic material for breeding experiments on oyster mushroom.

The experiment was financed by the Governmental Grant KBN number: N310 058 32/2762

Jasińska A., Sobieralski K.,-Siwulski M.

SUITABILITY OF FRUIT TREES SAWDUST FOR THE CULTIVATION OF REISHI MUSHROOM *GANODERMA LUCIDUM* (FR.)KARST.

Poznań University of Life Sciences
Ul. Dąbrowskiego 159, Poznań, 60-594, Poland
jasinska.a@gmail.com

Ganoderma lucidum is cultivated in China for more than 2000 years, and was always known as the "elixir of immortality" or "spiritual power mushroom" (Chang,2003; Chang &Buswell,2003). It is saprophytically growing mushroom occurring on living and decaying wood of deciduous forests. In nature it is common in the subtropical and moderate climate of Asia, United States, Europe and Southern America (Stamets,2000). In Poland this species is protected, occurs very sparsely (Sokół,2000). Many species of edible mushroom were used as a medicine, especially in Asiatic countries, also Reishi mushroom was found to be medically active in several therapeutic effects for instance HIV, antitumor, antifungal, antioxidant, nerve tonic, hypercholesterolemia and hyperlipidemia (Chen et al.,2000; Wagner,2003; Gao et al.,2003;Diallo et al.,2001).

The cultivation of Reishi is often carried on the various sawdusts, especially on: beech, alder, hazel, poplar, birch and not so commonly fruit trees (Chen & Milles,1996; Chen,1999; Stamets,2000). Experience of many authors show, that the mycelium growing rate as well as yielding depends on used substrate and cultivation method.

The aim of following investigation was to define the suitability of the fruit trees sawdusts for cultivation of Reishi mushroom *Ganoderma lucidum*. Earlier experiments showed the best growing rate on beech sawdust enriched with the addition of wheat bran. More over, the quick growth was observed on alder sawdusts.

In the first stage of the following investigation six sawdust obtained from fruit trees such as: apple, pear, cherry, sour cherry, plum and Italian walnut were used. As a control, the beech sawdust has been used. All the substrates were enriched with 20% of wheat bran. The varieties used in the investigation were marked as CS95, LZ1, LZ2 and LZ3. The experiment was implied in biological glass tubes, 18 cm high and 1,5 cm in diameter. The linear growing rate was measured after 14 days of incubation in 25C.

Conducted experiment shows the substrate affects the mycelium growing rate as well as the yielding of examined strains of *Ganoderma lucidum*.

The best growing rate was observed on the apple sawdust (7,4 cm) and it was statistically similar with the beech sawdust, which constituted control, 6,7 cm. Relatively good mycelium growth was

demonstrated on pear and plum sawdust, the slowest growing rate was on the Italian Walnut sawdust, only 3,1 cm. Two of the examined strains showed the equal, statistically insignificant, growing rate – LZ3 and CS95. The slowest growth demonstrated strains LZ1 and LZ2, regardless the used substrate.

The second stage of the investigation was the comparison of yielding above mentioned strains on the fruit trees sawdust substrates. The investigation result in similar yielding between examined sawdust. Lowest, statistically significant, yielding was observed on the Italian Walnut sawdust. Moreover, the experiment showed that fruit trees sawdust can be used as the cultivation substrate with good outcomes, excluding Italian Walnut.

Generally, sawdust of the fruit trees is much more difficult to obtain than the investigated earlier, beech, birch, oak or alder sawdusts, which occur in a very big amount in Polish conditions. However, when appearing as the agricultural waste, could be successfully used as the cultivation substrate for Reishi mushroom *Ganoderma lucidum.*

The experiment was financed by the Governmental Grant KBN number: N N310 083636

Jasińska A., Siwulski M., Sobieralski K.

STRAW OF ENERGY GRASSES – INFLUENCE ON THE MYCELIUM GROWTH OF BLACK POPLAR MUSHROOM *AGROCYBE AEGERITA* (BRIG.) SING.

Poznań University of Life Sciences
Ul. Dąbrowskiego 159, Poznań, 60-594, Poland
jasinska.a@gmail.com

Black poplar mushroom, *Agrocybe aegerita* grows saprophytically, very often in clusters on as well as lives and decays stumps of mostly deciduous trees such as: poplar, willow, black poplar, ash, elderberry, black locust and Brazilian araucaria [Wright & Alberto,2002]. Occurs commonly across southern Europe, United States and similar climatic zones of the Far East. It is an edible mushroom known already by ancient Romans and Greeks (Véssey,1972). The cap is convex, expanding to plane at maturity, even up to 20 cm in diameter, yellowish gray to grayish brown, darker towards the center. Gills gray at first, with spore maturity becoming chocolate brown. Stem is white, adorned with a well developed membranous ring, usually colored brown from spore fall (Uhart & Alberto, 2007).

Black poplar mushroom gained nowadays special attention for its healing properties (Chang & Buswell,1996). Extracts from *Agrocybe aegerita* acquired antimutagenic activities and might play enormous role in cancer prevention (Shon & Nam,2001). Black poplar mushroom was found to be medically active in several therapeutic effects for instance antitumor, antifungal, antioxidant, nerve tonic, hypercholesterolemia and hyperlipidemia (Wesser & Weiss,1999; Cheung & Cheung & Ooi,2003; Lo & Cheung,2005; Tsai & Tsai & Mau,2007).

The crop commodity is usually done on sawdust of deciduous trees (Poppe & Hofte,1995; Siwulski & Sobieralski,2004; Uhart et al.,2008). Investigations provided by numerous authors suggest that also many agricultural wastes could be used as a cultivation substrate (Philippoussis & Diamantopoulou,2000; Uhart et al.,2008; Omoanghe et al.,2008).

The aim of this study was to examine the suitability of straw of energy grasses as a substrate for cultivation of *Agrocybe aegerita*. Six kinds of energy grasses were used: *Miscanthus giganteus*, *M. sinensis*, *M. sacchariflorus*, *Andropogon gerardi*, *Elymus elongates ssp. ponticus* and *Panicum virgatum* and wheat straw. Four strains of *Agrocybe aegerita* were used in the following investigation. The straw was chopped into 2-5 cm chaff and placed in the biological glass tubes, 18 cm long and 2,0 cm diameter. The linear growing rate was measured after 18 days of incubation in 25°C.

The growing rate of the mycelium of examined strains depended on the type of used straw. The best straw, regardless the strain used in the examination, occurred to be *M. giganteus* and *M. sinensis* – 10,3 and 10,2 cm respectively. No statistically significant importance was showed between those substrates. Definitely, statistically the slowest growth of examined strains was showed on wheat straw (4,0 cm). All examined strains demonstrated very quick growing rate regardless the substrate. The strains marked AE05, AE06 and AE06 showed the best growing rate (8,1, 8,4 and 8,2 cm respectively), however there was no statistically significant importance. Strain AE02 showed the slowest grow (7,6 cm), statically important was not so much slower than the best strains. The results of this investigation show that the

energy grasses, especially *Miscanthus giganteus* and *M. sinensis* could be considered as a cultivation substrate, however further investigation should be run considering yielding and crop efficiency.

Jasińska A., Siwulski M., Sobieralski K.

IMPACT OF INCUBATION TEMPERATURE ON MYCELIUM GROWTH OF BLACK POPLAR MUSHROOM *AGROCYBE AEGERITA* (BRIG.) SING.

Poznań University of Life Sciences
Ul. Dąbrowskiego 159, Poznań, 60-594, Poland
jasinska.a@gmail.com

Agrocybe aegerita (Brig.) is an edible mushroom occurring commonly on all continents [Watling,1992], and the cultivation history of this species was already known in the ancient Greece and Rome where its flavor qualities were valued (Véssey,1972). Many species of edible mushroom was used as a medicine, especially in Asiatic countries, also Black poplar mushroom was found to be medically active in several therapeutic effects, for instance antitumor, antifungal, antioxidant, nerve tonic, hypercholesterolemia and hyperlipidemia (Cheung and Cheung & Ooi,2003; Lo and Cheung,2005; Tsai, Tsai, Mau,2007).

The first stage of growing mushrooms is mycelium production on agar media. The growth rate of mycelium depends on the type of media as well as of species and strain of mushroom (Bilay, Solomko & Buchalo,2000). The growing conditions, especially temperature of incubation, play also very significant role. Many authors indicate the temperature of 24-25°C as the best for mycelium growth [Jablonsky,1986; Zadrazil,1999; Isikhuemhen et al.,2008]. However, the air temperature should be different depending on mycelium stage of development. The temperature fosters mycelium differentiation and creation of tightly adherent hyphae, which starts the stadium of primordial formulation [Komatu,1961]. Thermal stress caused by the rapid temperature reduction or temperature fluctuations is used for initiation of fruitbodies development. The quick growing mycelium dominates the substrate in a short time and prevents it from contamination by parasitic fungi [Lelley,1991]. Therefore indicating the best temperature for mycelium growing is one of the key factors in mycelium production.

The aim of this study was to investigate influence of different temperatures of incubation on the growing rate of 4 strains of Agrocybe aegerita. Seven temperature meanings of incubation were used: 13° C, 16°C, 19°C, 22°C, 25°C, 28°C and 31°C. The strains of Agrocybe aegerita indicated as AE02, AE05, AE06 and AE11, originated from various gene banks in Belgium, Germany, Spain and Poland. Nine cm diameter Petri dishes were used in this experiment, and the strains were inoculated on wheat agar media. The growth rate was measured by the diameter of mycelium occupied media after 9 days of incubation

The investigation showed that growing rate of the mycelium of examined strains depended on the temperature of incubation. The best incubation temperature, regardless the strain was 28°C (7,9 cm). The growing rate of examined strains was statistically significantly important. The temperature where the mycelium of examined strains showed the slowest growth was 13°C (1,1 cm). Strains designed as AE06 and AE11 demonstrated the quickest growth regardless on the temperature, the average growing rate showed no statistically significant importance (5,1 cm). Both of the mentioned strains (AE06 and AE11) showed the best growing rate in the temperature of 28°C (8,2 cm). The experiment showed that even in low and high temperatures the mycelium continues to grow, however the growing rate is slower. The difference between the temperatures 25°C and 28°C, though was not statistically significantly important, was not so big as it is between the 28°C and 31°C – this might be significant for the cultivation and should be taken under more specific consideration, perhaps in the following experiments.

Jasińska A., Sobieralski K., Siwulski M., Górski R.

THE USE OF CULTIVATION METHODES TO INCREASE THE DRY MATTER CONTENT OF CARPOPHORES OF BUTTON MUSHROOM AGARICUS BISPORUS (LANGE) IMBACH.

Poznań University of Life Sciences
Ul. Dąbrowskiego 159, Poznań, 60-594, Poland
jasinska.a@gmail.com

Dry matter (DM) is one of the most important factors regarding the quality of mushroom carpophores. Fresh carpophores having 7 -14% of dry matter are firm (Van Loon,2000), in consumers

opinion, better. With 6% the carpophores become pink. Extensive progress in production techniques led to drastic drop of the dry matter content and the same the quality of the button mushroom. In the beginning of last century, when the dry mater started to be analyzed, the average dm content was 12,5%, while last couple of years show rapid loss of DM content- 6/7 to 8% (Uliński & Szudyga,2004). Currently numerous studies are undertaken on specification of the most important factors affecting dry matter content of fresh carpophores (Uliński & Szudyga,2004, Tsai et al.,2006; Coolak et al.,2007; Sobieralski et al.,2007). DM content is strictly correlated with ability of maintaining high market quality (Sobieralski,2007). Brown varieties tend to have higher DM than white ones. American variety Portabella characterizes the high DM content-12%.

The aim of this study was to investigate the DM content of two varieties: brown IltaSpawn FB21 and white Amycel 2200 and their crossbreds: FB21/3B, FB21/4M, FB21/7T and AM2200/42, AM2200/11, AM2200/48. The compost was prepared according to standard procedure. Plastic containers, 38 cm long, 30 cm wide and 14 cm high were used. The containers were filled with the 6 kg of substrate. The experiment was held in 4 repetitions and 2 cultivations cycles. The dry matter content was measured using the gravimetric method.

The results showed that the average DM content in carpophores of brown varieties and crossbreds of button mushroom was higher than in the white varieties and crossbreds.

Regarding the brown varieties and crossing, dry matter content in the variety FB21 was 8,1, while the FB21/4M crossing demonstrated the highest DM content – 8,8%. The lowest dry matter content among the brown mushroom showed FB21/7T crossing, only 7,3%.

White varieties and crossing showed significantly lower DM content comparing to brown mushrooms. The amount of DM in Variety AM2200 was 7,4%. The same DM content demonstrated AM2200/11 and AM2200/48 crossing, while significantly the lowest DM content was obtained in carpophores of AM2200/42 crossing, only 6,4%.

The dry mater content differ between the flushes, which was also confirmed the investigations of Uliński and Szudyga (2004). In the following flushes the DM content was increasing. This correlation was observed as well as within the dry matter content of white variety AM2200 and its crossing and brown variety FB 21 and its crossing.

The conducted research show the single spore cross breeding methods may increase the dry matter content in the carpophores, which is only one of few quality factors. The essential meaning still belongs to yielding ability of variety or the crossing. Therefore further investigations should be undertaken identifying the yielding ability of the crossbreds which gave the highest DM content in our experiment.

The experiment was financed by the Governmental Grant KBN number: N N310 089037

Sobieralski K., Jasińska A., Siwulski M.

COMPARISON OF YIELDING OF NATURAL ORIGIN *COPRINUS COMATUS* (MULLER:FRIES) S.F. GRAY STRAINS.

Poznań University of Life Sciences
Ul. Dąbrowskiego 159, Poznań, 60-594, Poland
jasinska.a@gmail.com

Coprinus comatus, Shaggy Mane, is a common mushroom occuring in Poland from late summer and fall. Its natural habitat are lawns, meadows, around barnyards, along roadsides and enriched soils. Cap is 6-14 cm high by 3-5 thick, vertically oblong, dingy brown at first, white afterwards, decorated with ascending scales. Gills are crowded, coloured white to very pale, long, broad and slightly attached or free to the steam. Stem is 6-15 cm long by 1-2 cm thick, equal, hallow and bulbous in the base. Stem is adorned with a movable, membranous collar-like ring, that separates from the cap margin as the mushroom enlarge. As the mushroom mature, the gills turn black and the spore-ladened fluid drips from the rapidly receding cap margin. The cap eventualy totally recedes, leaving only the stem (Siwulski & Sobieralski,2004).

Indor cultivation requires optimum temperature 24-25°C with the air moisture 90-95%. Yielding usually takes several weeks, with 4 to 6 flushes of carprophores. Recently numerous

studies were undertaken on comercial cultivation of this mushroom because it was found to be medically active in several therapeutic effects (Stamets,2000).

The aim of this investigation was to compare yielding of 6 strains of *Coprinus comatus* originated from natural habitats. Following strains were used: Cc7SW from Swarzędz, Cc1Ma – from Lasek Marceliński in Poznań, Cc18Bi – Biedrusko area, Cc9St – Stajkowo area, Notec Forrest, Cc14Ko from Komorniki and Cc11Ro from Rosnówko. The experiment was established in 2 cycles in 4 replications, the cultivation substrate was the typical compost used for button mushroom cultivation. The compost was the mixture of rye straw and poultry litter, prepared by the Griensven [1988] method. Plastic containers 38 cm long by 30 cm wide by 14 cm high were filled with 6 kg of compost. The carpophores were collected in 4 flushes.

Obtained yields fluctuated in wide range from 0,9 up to 6,2 kg/m^2. The highest yield was obtained from strain Cc9St (6,2kg/m^2), similar relatively high yield was obtained from strain marked as Cc18Bi (5,42 kg/m^2). Lowest yield gave strain CC1Ma – only 0,9 kg/m^2. Yield obtained from rest of the strains was as follows: Cc14Ko – 4,1 kg/m^2, Cc7Sw – 2,3 kg/m^2 and Cc11Ro – 1,7 kg/m^2.

Investigated strains differed also in the morphology of carpophores, where the biggest caps formed strain Cc18Bi, and the smallest formed Cc11Ro. Conducted studies allow to conclude the investigated strains of *Coprinus comatus* characterized by high yielding variability. Yields fluctuated in very wide ranges. Strains giving the highest yields could be used in breeding new varieties intended for commercial cultivation. When choosing the best strains for breeding attention should be paid not only on yield value but also on the morphological features of mushrooms. Studies on breeding of new strains and varieties of *Coprinus comatus* were undertaken on the Poznan University of Life Science and succeed in breeding new, original variety of this species.

The experiment was financed by the Governmental Grant KBN number: N N310 058 32/2762

Siwulski M., Jasińska A., Sobieralski K., Sas-Golak I.

COMPARISON OF MYCELIUM GROWTH AND YIELDING OF ORIGIN CROSSBRED *LENTINULA EDODES* (BERK.) PEGLER CULTURES.

Poznań University of Life Sciences
Ul. Dąbrowskiego 159, Poznań, 60-594, Poland
jasinska.a@gmail.com

Yielding of *L.edodes* is highly dependent on the type of substrate and cultivation conditions, as well as on the strain (Stamets,2000; Sobieralski et al.,2006). Large yield with high quality is very demanded feature during the experiments on breeding new strains of mushrooms. Currently numerous comparative genetic studies are undertaken on new strains of *L. edodes* (Terashima et al., 2002; Zhang et al.,2007).

The aim of this study was to compare growth and maturation of mycelium for further fructification and yielding of several crossbreed cultures of *L. edodes* originated from own breeding.

The investigations were made in the Vegetable Crops Department and the Mushroom Farm Mycomed in Kościelna Wies in 2009 – 2010. The study was divided into two separate experiments. The first one was laboratory comparison of mycelium growth on the sawdust substrate. The second part was the cultivation experiment, where the maturation of mycelium and yielding was compared. 15 crossbred cultures of *L. edodes* were used. The substrate in both experiments was mixture of two kinds of sawdust, beech and oak (1:1 vol.), enriched with 20% of wheat bran (in relation to dry matter of sawdust), the moisture content was 65%.

The growing rate of the crossbred cultures differed in growth on the sawdust substrate. Among 15 examined cultures, two demonstrated better growing rate from the other 13 cultures. Maturation of mycelium much less different studied crossbred cultures and ranged from 65 to 75 days. However, it was found that one of the studied crossbred cultures was capable of creating carpophores already in the 45 day of incubation. Most crossbred cultures differed not significantly between the size of the yield. The exception was crossbred culture, which could yield both 45 and 75 days of incubation. The yield obtained from this culture was the greatest. No correlation was found between mycelium growth rate and the magnitude of the yield tested crossbred cultures.

The experiment was financed by the Governmental Grant KBN number: N N310 224733.

МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІЯ ТА ІМУНОЛОГІЯ
MICROBIOLOGY, VIROLOGY AND IMMUNOLOGY

Абдуліна Д., Даценко Я., Асауленко Л.

ВИВЧЕННЯ СКЛАДУ МІКРОБНИХ УГРУПОВАНЬ, ВИДІЛЕНИХ ІЗ РІЗНИХ ЕКОЛОГО-ТЕХНОГЕННИХ ЗОН

Інститут мікробіології і вірусології НАНУ
вул. Заболотного, 154, м. Київ, 03680, Україна
alarisa@serv.imv.kiev.ua

У різних еколого-техногенних зонах кількісний та якісний склад мікробних угруповань відносно стабільний і здатний до саморегуляції. Техногенне навантаження на екосистему спричиняє зміни у біорізноманітті мікробних угруповань. Дослідження складу мікробних угруповань дає можливість оцінити та прогнозувати зміни стану довкілля під впливом техногенезу.

Метою нашого дослідження було виділення та вивчення складу мікробних угруповань у різних еколого-техногенних зонах.

Зразки відбирали в екотопах із різним техногенним навантаженням: техногенні промислові ніші (газопровід «Союз», Карпати; тунель та ґрунти в місцях прокладання тунелю метрополітену, міські тепломережі, м. Київ), природні специфічні еконіші (узбережжя Чорного моря: с. Лазурне та Євпаторійський лиман Мойнаки), чисті природні еконіші (с. Нові Петрівці, с. Бугаївка, Київська обл.)

Зразки ґрунтів, біообростань, води та мулів відбирали у весняно-літній сезон. Виділення бактерій проводили, висіваючи на елективні середовища Постгейта «В», Каліненко, Гільтая, Бейєрінка та МПБ. З мікробних угруповань виділені сульфатвідновлювальні, залізовідновлювальні, денітрифікувальні, тіонові, амоніфікувальні бактерії.

Установлено, що мікробні угруповання відрізнялися за кількісним складом у різних зонах відбору. У техногенних екотопах виділялася найбільша кількість сульфатвідновлювальних (10^4-10^8 кл/мл) та залізовідновлювальних (10^6-10^8 кл/мл) бактерій. Чисельність денітрифікувальних і тіонових бактерій була незначною до 10^1-10^2 кл/мл, кількість амоніфікувальних бактерій сягала 10^4-10^7 кл/мл. У природних специфічних екотопах кількість сульфатвідновлювальних та залізовідновлювальних бактерій була на 2-3 порядки меншою порівняно з техногенними екотопами і становила 10^4-10^6 кл/мл. Чисельність денітрифікувальних і тіонових бактерій була на 1-3 порядки вищою і становила 10^3-10^5 кл/мл і 10^2-10^3 кл/мл, відповідно. Кількість амоніфікувальних бактерій досягала 10^6-10^7 кл/мл. Найменшу чисельність бактерій ми виявили у мікробних угрупованнях, виділених із чистих природних зон. Кількість сульфатвідновлювальних бактерій досягала 10^3 кл/мл, залізовідновлювальних - 10^3-10^5 кл/мл, денітрифікувальних – 10^2-10^3 кл/мл. Тіонові бактерії майже не виділялися, їхня чисельність досягала десятків клітин. Кількість амоніфікувальних бактерій також була дещо меншою порівняно з техногенними екотопами та становила10^4-10^5 кл/мл.

Отже, за техногенного навантаження у мікробному угрупованні відбуваються зміни у співвідношенні фізіологічних груп бактерій. У техногенних зонах домінували корозійно-небезпечні бактерії, а саме сульфатвідновлювальні та залізовідновлювальні бактерії. У природних зонах зростала кількість тіонових та денітрифікувальних бактерій. Чисельність амоніфікувальних бактерій майже не залежала від зони відбору.

Дослідження мікробного біорізноманіття є важливою складовою частиною моніторингу і може бути одним із критеріїв оцінки корозійної агресивності ґрунтів в умовах техногенного навантаження.

Бабенко Л.[1,2], Скоробогатов О.[1]

ОПТИМІЗАЦІЯ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ЕКСПРЕСІЇ ПРОТИПУХЛИННОГО ЦИТОКІНУ ЕМАР II В КЛІТИНАХ *ESCHERICHIA COLI BL21(DE3)pLysE*

[1]Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01033
[2]Інститут молекулярної біології та генетики НАН України,
вул. Академіка Заболотного,150, 03143, м.Київ-143
babenko_lesia@ukr.net

ЕМАР II - ендотеліальний та моноцит-активуючий поліпептид II - новий цитокін, який викликає ефект апоптозу та функціонує як інгібітор ангіогенезу при розвитку судинної систе-

ми пухлин. Здатність ЕМАР II інгібувати неоангіогенез і стимулювати апоптоз ракових клітин стала основою для його дослідження в якості протипухлинного лікарського засобу. Крім того, ЕМАР II проявляє синергічні ефекти з TNF-α, викликає позитивний хемотаксис моноцитів і лейкоцитів, має протизапальну активність та підсилює прокоагуляційну активність ендотеліальних клітин людини. Для впровадження цитокіна ЕМАР II в біомедичну практику необхідна розробка високоефективної генноінженерної технології його синтезу в препаративних кількостях. Метою даного дослідження була оптимізація бактеріальної експресії рекомбінантного цитокіна ЕМАР II людини в клітинах *Escherichia coli* та підбір оптимальних умов культивування бактеріальної культури для підвищення рівня виходу кінцевого продукту.

Для суперпродукції цільового білка використовували штам-продуцент рекомбінантних білків, отриманий на основі реципієнта *Escherichia coli BL21(DE3)pLysE*. Штам трансформували за загальноприйнятою методикою сконструйованим плазмідним вектором pET30a-EMAP II, у якого під контролем промотора фага T7 містився ген, що кодує цільовий білок – ЕМАР II. Генетичним маркером плазміди pET30a є ген *kan*, що забезпечує стійкість трансформованих клітин до канаміцину. Індукцію експресії рекомбінантного білка з промотора lacUV5 здійснювали шляхом додавання в культуральне середовище ізопропіл-β-тіогалактопіранозиду, ІПТГ, в різних кількостях від 0,5 мМ до кінцевої концентрації 1,5 мМ. Визначали час культивування культури до індукції (1-3 год) та після індукції експресії рекомбінантного білка в межах від 1 до 5 год. Для підбору оптимального середовища культивування бактеріальної культури тестували такі середовища: середовище Luria-Bertani, м'ясо-пептонний бульйон (пептон, суміш амінокислот, Na_2CO_3, NaCl) та мінімальне середовище А (глюкоза, тіамін, біотин, $MgSO_4$, $CaCl_2$, NH_4Cl, NaCl, Na_2HPO_4, KH_2PO_4, солі заліза, цинку, міді, кобальту, бору, марганцю у якості мікроелементів). У результаті проведених досліджень оптимізована система бактеріальної експресії цитокіна ЕМАР II в клітинах *E. coli BL21(DE3)pLysE*. Встановлено, що оптимальна кількість індуктора ІПТГ для експресії ЕМАР II становить 1,25 мМ, час культивування бактеріальної культури до та після індукції синтезу цільового білка становить 2 та 4,5 години, відповідно. Найбільш оптимальним середовищем для культивування та бактеріальної експресії цитокіна ЕМАР II в клітинах *E. coli BL21(DE3)pLysE* є мінімальне середовище А.

Бевзюк О., Мойсеєва Х., Драганчук О., Моргулець Л.

ВИЖИВАННЯ ТА АНТИОКСИДАНТНИЙ ЗАХИСТ ДРІЖДЖІВ SACCHAROMYCES CEREVISIAE ЗА ДІЇ ВИСОКИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ ВУГЛЕВОДІВ

Прикарпатський національний університет ім. Василя Стефаника,
вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76000, Україна
lmorgulets@ukr.net

Обмін вуглеводів у живій системі супроводжується появою у клітині специфічних адуктів, які є наслідком процесів неферментативного глікозилювання білків. В основі цього явища лежить нуклеофільна взаємодія карбонільної групи вуглеводу з аміногрупами переважно лізину чи аргініну. Подібне неферментативне пошкодження білкових молекул інтенсивніше відбувається за присутності високих концентрацій вуглеводів у середовищі росту клітин. Накопичення продуктів неферментативного глікозилювання спостерігається також при старінні, порушеннях клітинних функцій, цукровому діабеті у ссавців тощо. В останні роки особлива увага приділяється вивченню здатності різних вуглеводів до неферментативного глікозилювання та наслідків подібних процесів на клітинному рівні. З огляду на це, метою даної роботи було дослідити репродуктивну здатність і антиоксидантний захист одноклітинних еукаріотів дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* за дії високих концентрацій вуглеводів.

У дослідженнях використовували штам *S. cerevisiae* YPH250 (дикий тип, MATa tprl-Δ1, his3-D200, lys2-Δ1, ade2-101, ura3-52 1eu2-Δ1). Дріжджі вирощували протягом 24 годин за умов аерації при 28°C у середовищі, яке містило 1% сахарозу, 2% ферментативний пептон та 1% дріжджовий екстракт. Клітини відмивали у стерильних умовах та переносили на інкубацію з 10% розчинами глюкози та фруктози. Для оцінки життєздатності клітин був використаний за-

гальноприйнятий підхід оцінки кількості колоній-утворюючих одиниць. Активність ферментів та концентрацію карбонільних груп білків визначали спектрофотометричним методом.

Показано, що при інкубуванні клітин дріжджів з розчинами 10% глюкози і фруктози репродуктивна здатність клітин знижується. Достовірне зниження спостерігається вже на третю добу інкубації в середньому у 2,5 рази. Як контроль використовували розчини 10% лактози, яку дріжджі не ферментують, 1,6% NaCl, що відповідає осмолярності 10% розчинів обраних нами моносахаридів, та воду. Репродуктивна здатність клітин при інкубації з розчином NaCl знижується з часом, проте достовірне зниження у 1,7 разу спостерігається на п'яту добу інкубації. Рівень карбонільних груп у білках на першу та третю добу інкубації з 10% розчином глюкози та 10% розчином фруктози був вищим порівняно з контролем. В обох випадках спостерігалося також зростання активності каталази з часом інкубації. Цікаво, що на 3 та 5-ту доби спостерігалася достовірна різниця в активностях даного ферменту між клітинами, що інкубувалися з розчинами глюкози та фруктози. На 3 -тю добу активність каталази в клітинах, інкубованих з фруктозою, була в 1,7 разу нижчою, а на 5 добу – в 1,5 разу вищою, ніж у клітинах, інкубованих з розчином глюкози. Активність супероксиддисмутази на першу, третю та п'яту доби інкубації була вищою, ніж у клітинах без інкубації. Достовірної різниці між вуглеводами не спостерігалось. Подібним чином змінювалась і активність глутатіонредуктази клітин дріжджів. Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, навпаки, достовірно знижувалася порівняно з контролем, при інкубації з 10% розчинами глюкози та фруктози.

Таким чином, інкубація з 10% розчинами вуглеводів негативно впливає на репродуктивну здатність клітин дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Зростання вмісту карбонільних груп у білках і активності антиоксидантних ферментів вказує на можливий розвиток у клітинах оксидативного стресу за даних умов.

Бундз О., Фолюш М., Яворська Г.

ПОРІВНЯННЯ МІКРОФЛОРИ ДЕЯКИХ ВІДКРИТИХ ВОДОЙМ М. ЛЬВОВА

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

"Нас, жителів Землі, можна порівняти з
пасажирами корабля, яким дано певний
запас води, але пасажири судна можуть
розраховувати, що у разі нестачі води
якесь інше судно допоможе їм, тоді як ми у
Всесвіті самотні з нашим невеликим запасом
води, необхідної для життя."
Ж. І. Кусто

За міжнародною класифікацією, Україна належить до найменш забезпечених власними водними ресурсами європейських держав. На сьогодні в Україні практично всі поверхневі, а в окремих регіонах і підземні води за рівнем забруднення не відповідають вимогам стандартів до джерел водопостачання [Дикий І. Л., 1999]. Сучасний рівень забрудненості поверхневих вод визначається комплексом антропогенних факторів, які певним чином змінюють якість води, склад донних відкладів і перебіг біологічних процесів у водному середовищі. Санітарно-мікробіологічні дослідження води водних ресурсів м. Львова є на сьогодні актуальним питанням. Мікрофлора відкритих водойм характеризується великою різноманітністю і непостійністю, що потребує систематичного контролю.

Метою роботи було дослідити і порівняти чисельність мікроорганізмів у воді відкритих водойм м. Львова (парку Погулянки, Ботанічного саду, вул. Симоненка, вул. Коновальця та Стрийського парку).

Для виявлення чисельності водної мікрофлори використовували методи для загального підрахунку мікроорганізмів.

Виявлені такі фізіологічні групи мікроорганізмів: сапрофіти, плісеневі гриби, амілолітичні мікроорганізми і олігонітрофіли. Значна частина мікрофлори досліджених водойм представлена сапрофітами та плісеневими грибами. Спостерігається сезонна зміна кількості мікроорганізмів у досліджуваних водоймах. Значне підвищення кількості бактерій спостерігається у весняний період, що пояснюється сприятливими умовами для їхнього розмноження, зокрема температурою, освітленістю, кількістю поживних речовин. Досліджені проби води всіх водойм характеризувалися значно вищою чисельністю мікроорганізмів, яка значно перевищувала встановлені норми, що дозволяє стверджувати про значне мікробне забруднення водойм, які розташовані на території м. Львова. Загальна кількість мікроорганізмів у воді водойми Стрийського парку була значно вищою, ніж у інших водоймах. Найвищим у даній водоймі був і індекс бактерій групи кишкової палички. Інші досліджені водойми м. Львова за санітарно-мікробіологічними показниками також можна вважати забрудненими і небезпечними, оскільки індекс БГКП значно перевищує встановлені норми, що не може не викликати занепокоєння.

Бурцева Г., Даниленко С.

ВПЛИВ ЗАКВАШУВАЛЬНОЇ КОМПОЗИЦІЇ НА БІОХІМІЧНІ ПРОЦЕСИ У ЦІЛЬНОМ'ЯЗЕВИХ СИРОВ'ЯЛЕНИХ ВИРОБАХ

Технологічний інститут молока та м'яса УААН
вул. М. Раскової, 4а, м. Київ, 02660, Україна
nyukaBu@rambler.ru

Для виробництва високоякісних ферментованих м'ясних виробів дедалі частіше застосовують спеціальні заквашувальні препарати, що містять композицію з декількох бактеріальних штамів. Застосування бактеріальних препаратів сприяє підвищенню санітарно-епідеміологічної безпеки продуктів і забезпечує перебіг біохімічних перетворень м'ясної сировини у бажаному напрямку, що надає змогу контролювати процес визрівання ферментованих продуктів і скорочувати термін їх виготовлення. Крім того, певні заквашувальні мікроорганізми здатні підвищувати біологічну цінність ферментованих продуктів завдяки біосинтезу ферментів, вітамінів, вільних амінокислот.

З метою вивчення біохімічних процесів, що відбуваються під час визрівання цільном'язевих сиров'ялених виробів під впливом спеціально підібраної симбіотичної композиції з штамів *Lactobacillus casei sp. rhamnosus* ВБ 3303*, L. plantarum* ВБ 3200 *і Staphylococcus simulans* ВБ 5300*,* нами було здійснено комплексні дослідження яловичих і свинячих баликів, виготовлених у лабораторних умовах.

Вміст молочнокислих бактерій і стафілококів на початку ферментації у зразках без заквашувальної композиції був на два порядки нижчий, а наприкінці дозрівання їх кількість у виробах без і з препаратом перебувала у межах одного порядку; але спостерігали суттєві відмінності за якісним складом вилученої мікрофлори. Оскільки впродовж ферментації та дозрівання у варіантах з препаратом домінували композиційні культури, то маємо припустити, що саме вони зумовлювали специфічний напрям біотрансформації сировини та формування смако-ароматичної гами. Слід зазначити, що додавання бактеріальної композиції сприяло підвищенню активної кислотності (у баликах з яловичини до 4,9 од. pH, зі свинини – 5,0 од. pH), та зниженню водної активності (a_w).

Для визначення специфічності розщеплення саркоплазматичних білків сировини мікрофлорою під час визрівання був застосований метод електрофорезу у ПААГ. За відносним вмістом білків з різною молекулярною масою виявлено різницю між продуктами, виготовленими зі застосуванням заквашувальної композиції та без неї. Також показано, що кожен із варіантів балика мав свою специфічну аміограму. Впродовж визрівання істотно збільшилася загальна кількість вільних амінокислот у варіантах із бактеріальним препаратом: на 36 % і 52 % для баликових виробів із яловичини та свинини відповідно; тоді як у контрольних зразках їх кінцевий вміст майже не відрізнявся від початкового або був нижчим за нього. Порівнюючи динаміку накопичення незамінних і замінних амінокислот у готових дослідних баликах зафіксоване збільшення кількості незамінних амінокислот як за абсолютним, так і за відносним вмістом. Зниження вмісту нітриту

натрію та утворення нітрозопігментів відбувалось інтенсивніше у баликах, ферментованих заквашувальною композицією, що пов'язано з розвитком нітритредукуючих мікроорганізмів у складі бакпрепаратів, зокрема *S. simulans* ВБ 5300. Перекисне число впродовж зберігання готових виробів було нижчим у зразках з препаратом і пояснюється високою каталазною активністю стафілококів, яка сприяє уповільненню процесів окислення жирів та знебарвлення продукту.

Отже, визначено бажані переваги у перебігу біохімічних процесів у сиров'ялених баликах із яловичини і свинини під впливом заквашувальних культур.

Герчак О., Білінська І.

МІКРОФЛОРА ПОВІТРЯ ЯК ПОТЕНЦІЙНА ЗАГРОЗА ДЛЯ СТАРОДРУКІВ

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

У багатьох музеях, художніх галереях, соборах, церквах є сотні тисяч унікальних пам'яток історії, для яких постійну небезпеку становлять плісеневі гриби та бактерії. Через них ми втрачаємо книги, які зберігаються віками і, на жаль, не піддаються відновленню. Важливість і цінність пам'яток спонукає займатися питаннями їхнього захисту від біопошкоджень, засобами профілактики та збереження від мікроорганізмів-деструкторів целюлози.

Наукова бібіліотека Львівського національного університету імені Івана Франка належить до одних із найстаріших у світі: минулого року вона відсвяткувала своє 400-ліття. У фондах відділу рукописних, стародрукованих і рідкісних книг ім. Ф. П. Максименка зберігаються безцінні книги, зокрема, інкунабули XV ст. На жаль, багато з них є пошкоджені біодеструкторами і потребують реставрації. У разі погіршення умов зберігання, перш за все температурно-вологісного режиму, виникає ризик їхнього повного руйнування під дією мікроорганізмів, особливо плісеневих грибів, які циркулюють у повітрі фондосховищ.

Для кількісного оцінювання мікрофлори повітря протягом 2009–2010 рр. проводили відбір проб повітря у всіх приміщеннях відділу у різних точках. Для виявлення плісеневих грибів використали сусло-агар, а для бактерій – м'ясо-пептонний агар.

Аналіз результатів дослідження показав, що у різних приміщеннях відділу мікробне число повітря суттєво відрізнялося. Кількість мікроорганізмів у повітрі коливалася від 47 КУО/м^3 до 542 КУО/м^3 при допустимій нормі 1000 КУО/м^3. У всіх дослідах значно більше мікроорганізмів було у повітрі читального залу, кабінету завідувача і кімнати персоналу порівняно з книгосховищами. Це можна пояснити ізольованістю та обмеженим доступом людей у останні. Найнижче мікробне число виявлено у пробах повітря, відібраних у квітні 2010 року. Причина цього, на нашу думку, відносно низькі показники температури (+15–+18°C) та вологості (31%–32%), які не сприяли розвиткові мікроорганізмів.

На поверхні та сторінках стародруків ("Історія Китаю" 1807 р., книга XVI ст., інкунабула 1478 р.) було виявлено 2–4 види плісеневих грибів і по одному виду бактерій. Ймовірно, ці книги були пошкоджені значно раніше за умов їхнього неправильного зберігання. На даний час мікроорганізми на них не розвиваються, а перебувають у стані спокою (спори), але при порушенні температурно-вологісного режиму можуть спричинити подальше руйнування стародруків. Ці книги становлять загрозу для інших, які зберігаються поруч. Тому було рекомендовано ізолювати пошкоджені книги в окреме "карантинне" приміщення.

Голембіовська С., Лавренчук В.

ДІЯ ПЕРОКСИДУ ВОДНЮ НА CRT$^+$ І CRT$^-$-МУТАНТИ STREPTOMYCES GLOBISPORUS 1912

Інститут мікробіології і вірусології НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ МСП, ДО3680, Україна
golembiovska@ukr.net

Пероксид водню тривалий час використовується як бактерицидний агент, який широко застосовується у медицині. Під час контакту пероксиду із біологічними об'єктами утворюється вода і атомарний кисень [O]. Останній є токсичним для живих клітин. Детоксикація пероксиду водню в клітині може відбуватися за допомогою ферментів антиоксидаційного

захисту (каталази, пероксидази, супероксиддизмутази), а також за рахунок дії каротиноїдів, які захищають клітини від фото- і оксидативних пошкоджень.

У продуцента ландоміцину Е *S. globisporus* 1912 були отримані 8 мутантів з розблокованим кластером генів біосинтезу каротиноїдів: шість спонтанних (4Crt, 6Crt, 7Crt, RVLcp, R3Lcp, 4Lcp) і два індукованих нітрозогуанідином (RVCrt, R3 Crt). Встановлено, що мутанти RVLcp, R3Lcp, 4Lcp продукують до 80%, а мутанти 4Crt, 6Crt, 7Crt, RVCrt, R3Crt до 47% лікопіну від загальної кількості утворених каротиноїдів. Ні один із мутантів не втратив здатності продукувати ландоміцин Е. Поява спонтанних безпігментних колоній у Crt^+-мутантів спостерігалася з частотою від 10^{-3} до 10^{-4}. Всі вказані мутанти, вихідний штам 1912, а також безпігментні (білі) Crt^--мутанти 4W, 7W, 7Y, 4W1, 7W2, 7W6 були перевірені на чутливість до пероксиду водню.

Найстійкішими до дії вказаного агента були мутанти RVLcp, R3Lcp, 4Lcp, які продукують більше лікопіну порівняно з іншими Crt^+-мутантами. Пероксид в концентрації 0,05 мМ не впливав на їх виживання, а після дії 0,2 мМ H_2O_2 рівень інактивації у них не перевищував 10%. Мутанти 4Crt, 6Crt, 7Crt, RVCrt і R3Crt, які продукують меншу кількість лікопіну були більш чутливими. Так H_2O_2 в концентрації 0,2мМ викликав у них зниження виживання приблизно на 40%. Найчутливішими до дії H_2O_2 були білі Crt^--мутанти і вихідний штам 1912. Рівень їх виживання в означених умовах (0,2мМ) знижувався майже на два порядки.

[1]Василів О., [1]Гнатуш С., [2]Білий О., [1]Кушкевич І., [2]Гетьман В., [3]Гречух Т.

ВПЛИВ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА СВІТЛОРОЗСІЮЮЧІ ВЛАСТИВОСТІ КЛІТИН БАКТЕРІЙ *DESULFUROMONAS ACETOXIDANS*

1 – Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Грушевського,4, м. Львів, 79005, Україна
E-mail: oresta.vasyliv@gmail.com
2 – Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Драгоманова,50, м. Львів, 79005, Україна
3 – Львівська комерційна академія,
вул.Туган-Барановського,10, м. Львів, 79005, Україна.

Світлорозсіюючі параметри бактерійних клітин, як правило, залежать від їх розмірів, показника заломлення складових компонент клітини: цито-плазми, нуклеїнової кислоти, організованої в нуклеоїд чи ядро та мембрани, і оточуючого середовища. Дані властивості описують у рамках відомих на даний час теорій Релея, Мі та Релея-Ганса. Серед методів отримання інформації про параметри біологічних клітин за змінами їх світлороз-сіюючих властивостей найбільш широко вживаними є ме-тод визначення мутності середовища, яка містить досліджувані клітини, метод дина-міч-ного розсіяння світла та метод статичного розсіяння світла. У даній роботі для оцінки світлорозсіюючих властивостей бактерійних клітин запропоновано метод, який базується на реєстрації змін інтенсивності розсіяного ними світла, шляхом статистичного набору змін амплітуди та тривалості імпульсів для частинок заданого розміру, побудові на основі одержаних даних вимірювання кореляційної функції, яка виражає статистичні характеристики інтенсивності розсіяння світла досліджуваними частинками, і одержання розподілу частинок за розмірами, шляхом розв'язування інтегрального рівняння Фредгольма першого роду:

$$F(U,t)=\int_{r_{\min}}^{r_{\max}} K(U,t,r)n(r)d(r), \qquad (1)$$

де r_{min} і r_{max} - верхня й нижня межа діапазону розмірів частинок, що реєструються;
n(r) - функція розподілу частинок за розмірами;

K(U,t,r) - функція розподілу нормованих значень амплітуд і тривалості реєстрованих імпульсів розсіяного світла калібрувальних частинок, яка є результатом попереднього зондування потоку рідини, монохроматичним когерентним світлом полімерних латек-сів заданого розміру, і відомим показником заломлення.

Модельними об'єктами були клітини сірковідновлювальних бак-те-рій *Desulfuromonas acetoxidans*, що змінюються за формою від паличковидної до овальної, розміром 0,4-0,8 х 1-4 мкм. Дані клітини розглядають як високоефективний елемент мікробо-анодних паливних комірок, який дозволяє забирати більше 80% електронів у процесі оксидування ацетатів до електричного струму. У роботі досліджено концентраційні зміни та відносний вміст клітин бактерій *Desulfuromonas acetoxidans* у заданих інтервалах розмірів за впливу купрум сульфату, плюмбум нітрату, кадмій сульфату та цинк сульфату. Показана кореляція даних змін з світлорозсіюючими, ростовими й акумулятивними властивостями даних бактерійних клітин.

Головань А., Курова А.

ДІЯ ПОХІДНИХ ТРИАЗИНУ ТА ІЗОНІКОТИНОВОЇ КИСЛОТИ В СИСТЕМІ ВІРУС-КЛІТИНА

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України
вул. академіка Заболотного, 154, Київ-МСП, Д03680, Україна
golovan26@ukr.net

Вірус Епштейна-Барр (ВЕБ), герпесвірус людини 4 типу, викликає як гострі (інфекційний мононуклеоз), так і онкологічні захворювання (лімфома Беркітта, назофарингіальна карцинома та ряд лімфопроліферативних захворювань). Специфічна антивірусна терапія направлена на інгібування активної репродуктивної стадії вірусної інфекції (ациклічні аналоги нуклеозидів – ацикловір, ганцикловір, цидофовір), при цьому на латентну форму інфекції вони не діють. Відповідно, сучасний підхід до скринінгу антиВЕБ препаратів спрямовує дослідження інгібіторів репродукції вірусів на вивчення їх протипухлинних, зокрема, апоптозстимулюючих властивостей.

Метою роботи було дослідження сполук похідних 1,2,4-триазину та ізонікотинової кислоти в культурах клітин Raji, Namalwa та B95-8 за умов інфікування ВЕБ. Препарат №1 це рибонуклеозид 3-тіо-триазинобензотіазину, синтезований в Інституті молекулярної біології і генетики НАНУ, препарат №2 4-(N-бензил)амінокарбоніл-1-метилпіридиній йодид, синтезований в Інституті фармакології і токсикології АМНУ

Визначено цитотоксичну та антиВЕБ дії досліджуваних сполук. Показано, що CC_{50} для препарату №1 становить 625 мкг/мл, для препарату №2 – 840 мкг/мл; EC_{50} становить 1 мкг/мл для препарату №1 та 0,1 мкг/мл для №2, відповідно, індекс селективності для препарату №1 – 625, для препарату №2 – 8400.

Розвиток процесу апаптозу вивчали в динаміці часу (3, 24 та 48 год.) при різних концентраціях препаратів за допомогою цитоморфологічного методу фарбування клітин, інфікованих ВЕБ, використовуючи вітальний фарбник Hoescht 33442, який інтеркалює в ДНК клітини та дозволяє виявляти характерну фрагментацію ядер – апоптичні тільця. Дослідження препарату №1 показало, що він не проявляє апоптозстимулюючу дію в жодній культурі клітин, відсоток апоптичних клітин в динаміці часу не перевищував 8% в культурі клітин Raji (на 24 год. інкубації при концентрації 50 мкг/мл).

При дослідженні препарату №2 визначено, що в концентрації 500 мкг/мл через 24 години відсоток апоптичних клітин становив 34% та 61% на 48 годину. Для культур клітин Raji та Namalwa кількість апоптичних клітин не перевищувала 15%.

Проведено електрофоретичне розділення ДНК клітин досліджуваних систем для виявлення апоптичної фрагментації. При дослідженні ДНК з трьох культур клітин, інфікованих ВЕБ та оброблених препаратом №1, утворення апоптичної драбини з ДНК-фрагментів не спостерігали. Чітку міжнуклеосомну фрагментацію ДНК в діапазоні 200-400 н.п. виявлено при електрофоретичному розділенні ДНК з клітин B95-8 оброблених 100 мкг/мл преперату №2, що свідчить про апоптичних шлях загибелі клітин. Такий ефект відсутній в лініях Raji та Namalwa.

Таким чином, показана антивірусна активність досліджуваних препаратів та виявлено апоптозстимулюючу дію 4-(N-бензил)амінокарбоніл-1-метилпіридинію йодиду на культурі клітин B95-8.

Деркач М., Мороз О., Перетятко Т.

ВПЛИВ ІОНІВ КАДМІЮ І МАГНІЮ НА УТВОРЕННЯ СІРКОВОДНЮ ТА ВІДНОВЛЕННЯ СУЛЬФАТІВ *DESULFOVIBRIO DESULFURICANS*

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
moroz_oksana@yahoo.com

Забруднення навколишнього середовища важкими металами з кожним роком набуває все більших масштабів. Особливо високий їх вміст виявляється у стоках промислових підприємств, затоплених кар'єрах сіркових родовищ тощо. Вивчали вплив кадмію і магнію на ріст, утворення сірководню та відновлення сульфатів клітинами сульфатвідновлювальних бактерій водойми кар'єру Яворівського сіркового родовища та досліджували характер комплексного впливу кадмію і магнію на сульфатредукцію.

Штами *Desulfovibrio desulfuricans K-45* і *Ya-11* вирощували у термостаті при температурі 30° С за анаеробних умов у пробірках, об'ємом 25 мл, чи колбах, об'ємом 500 мл, доверху заповнених середовищем Кравцова-Сорокіна. Для вивчення впливу іонів кадмію та магнію на ріст сульфатвідновлювальних бактерій у пробірки, заповнені рідким середовищем, додавали стерильні розчини $CdCl_2$ або/і $MgCl_2 \cdot 6\ H_2O$ у концентраціях: 0 (контроль); 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1; 2; 3; 4; 5; 8 і 10 мМ, а також суспензію клітин (0,05 г/л). Після 11-19 діб визначали біомасу фотоелектроколориметричним методом. Вивчали вплив солей важких металів: короткотерміновий (інкубація) і тривалий (вирощування в присутності іонів металів), на утворення бактеріями сірководню та відновлення сульфатів. Для з'ясування короткотермінового впливу металів на сульфатредукцію клітини вирощували в колбах впродовж 7 діб. Клітини від культуральної рідини відокремлювали центрифугуванням впродовж 25 хв при 6000 об/хв, відмивали дистильованою водою, до отриманої суспензії клітин додавали розчини $CdCl_2$ або/і $MgCl_2 \cdot 6\ H_2O$ для отримання кінцевої концентрації 3 мМ та інкубували впродовж 1 год. Для вивчення тривалого впливу кадмію на сульфатредукцію клітини вирощували впродовж 7 діб у колбах з середовищем, в яке додавали розчин $CdCl_2$ для отримання кінцевої концентрації 3 мМ. Клітини від культуральної рідини відокремлювали центрифугуванням, відмивали дистильованою водою. У пробірки вносили середовище і суспензію інкубованих або вирощених у присутності іонів металів та інтактних (контроль) клітин (0,05 г/л). Після певних проміжків часу визначали біомасу. У культуральній рідині, відокремленій від клітин центрифугуванням, вимірювали вміст сірководню йодометричним методом і сульфатів турбідиметричним.

Встановлено, що кадмій у концентраціях від 0,1 до 1 мМ не впливає на ріст сульфатвідновлювальних бактерій. Виявлено суттєве пригнічення росту *Desulfovibrio desulfuricans* іонами кадмію у концентраціях, вищих 3 мМ. Кадмій негативно впливає на утворення сірководню та відновлення сульфатів клітинами *D. desulfuricans* як інкубованими, так і вирощеними у присутності 3 мМ розчину кадмій хлориду. Бактерії, які підлягали більш тривалому впливові іонів металу при вирощуванні, виявилися менш здатними до продукування сірководню, ніж клітини, які в присутності іонів металу були інкубовані. Магній у концентраціях 0-3 мМ суттєво не впливав на ріст і сульфатредукцію сульфатвідновлювальних бактерій. Кадмій і магній є антагоністами, оскільки суттєвого пригнічення росту клітин сульфатвідновлювальних бактерій, інкубованих одночасно з іонами кадмію і магнію, не виявлено. Негативний вплив кадмію та магнію на здатність бактерій утворювати сірководень виявився меншим у разі їхньої взаємної присутності при інкубації, ніж кожного металу зокрема. Встановлено, що бактерії, інкубовані одночасно з іонами кадмію і магнію, більш інтенсивно відновлюють сульфати, ніж клітини, інкубовані з кожним металом зокрема. Отримані у роботі результати можуть бути використані для розробки способів отримання стійких до іонів важких металів штамів сульфатвідновлювальних бактерій, застосування яких є основою біотехнологічних процесів очищення водного довкілля від сірководню, сульфатів і важких металів.

Захарко І., Козьма К., Галайко С., Білінська І., Воробець Н.*

ПРОТИМІКРОБНІ ВЛАСТИВОСТІ ДЕЯКИХ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна
**Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького*

Застосування рослин для лікування різних недуг людини набуває дедалі більших масштабів, бо порівняно з хімічними препаратами екстракти рослин мають значно менше побічних негативних впливів на макроорганізм. Такі відомі лікарські рослини, як козлятник лікарський (*Galega officinalis L.*) та козлятник східний (*G.orientalis*) мають гіпоглікемічну активність, гінкго дволопатеве (*Ginkgo biloba L.*) – нормалізує кров'яний тиск, відновлює пам'ять, слух, мовні й рухові функції, еластичність і міцність судин, а грушанка круглолиста (*Pyrola rotundifolia*) застосовується як жарознижувальний, жовчогінний і заспокійливий засіб. Проте дані щодо антимікробних властивостей витяжок цих рослин у науковій літературі відсутні.

Метою роботи було дослідити вплив екстрактів перелічених лікарських рослин на мікроорганізми. Використовували рослинну сировину, взяту з ботанічного саду ЛНМУ імені Данила Галицького, або з природних місць проростання. Екстракти рослин одержували зі свіжозібраних або сухих листків рослин методом холодного і гарячого екстрагування за допомогою очищеної свіжоперегнаної води, 20% і 70% розчинів етилового спирту. Для дослідження антимікробної дії як тест-культури використали мікроорганізми з колекції культур кафедри мікробіології ЛНУ імені Івана Франка: грамнегативну бактерію *Escherichia coli*, грампозитивні бактерії *Staphylococcus aureus* і *Bacillus subtilis*, дріжджі *Candida pseudotropicalis*. Чутливість мікроорганізмів до екстрактів визначали методом дифузії в агар з використанням скляних циліндриків з вимірюванням діаметра зони затримки росту мікроорганізмів навколо цидліндриків.

Проведені експерименти показали, що з чотирьох досліджених рослин найсильнішу протимікробну активність володіли екстракти з грушанки круглолистої, які спричиняли затримку росту грампозитивних бактерій і дріжджів, стійкою до них виявилася лише кишкова паличка. У решти досліджених рослин виявлено лише фунгістатичну дію: їхні екстракти спричиняли затримку росту лише дріжджів *C. pseudotropicalis*. Причому за протигрибковою активністю екстракти сильно відрізнялися: найефективнішими виявилися екстракти з козлятника лікарського, а найслабшими за дією – екстракти з гінкго.

Метод екстрагування і вид екстрагента впливають на антимікробні властивості екстрактів. Для усіх рослин екстракти, одержані методом гарячого екстрагування, краще пригнічували ріст тест-культур і у більшості випадків ліпшою екстрагуючою речовиною виявився 70% розчин етанолу.

Таким чином, вперше було досліджено протимікробну активність відомих лікарських рослин козлятника лікарського і козлятника східного, грушанки круглолистої і гінкго дволопатевого.

Кметь О., Бігун І., Білінська І.

ТІОНОВІ БАКТЕРІЇ У РІЗНИХ БІОТОПАХ

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

Кругообіг сірки необхідний для забезпечення життя на Землі, адже цей біогенний елемент є у складі всіх живих організмів. Він міститься в амінокислотах, вітамінах, коферментах, а також у рослинних ефірних оліях. У всіх процесах кругообігу сірки, пов'язаних з її окисненням або відновленням, беруть участь мікроорганізми. Так, тіонові бактерії окиснюють іони S^{2+}, S^{o}, $S_2O_3^{2-}$, SO_3^{2-}.

Метою досліджень було визначити кількісний склад тіонових бактерій у різних об'єктах довкілля. Було відібрано проби грунту і води з Яворівського і Роздільського сіркових родовищ (Львівщина), ґрунту, води або мулу з озер і джерел сіркових бальнеологічних курортів Львівщини (смт Великий Любінь), Криму (м. Євпаторія), Закарпаття (санаторій "Синяк"), Болгарії (м. Помор'є), ґрунту з териконів шахт Львівсько-Волинського вугільного басейну (м.Червоноград), а також проби грунту і води з околиць м. Львова (смт Брюховичі).

Для виділення тіонових бактерій використано метод селективних середовищ. Проби ґрунту або води висівали на специфічні для цих бактерій середовища: Бейєрінка, Баалсруда, Траутвейна, Старкі, Ваксмана, Сільвермана-Люндгрена, Лютена та середовища № 4 і № 5, оскільки відомо, що різні види тіонових бактерій вибагливі до складу поживних речовин і до значення pH. Однак проведені дослідження показали, що не всі середовища дозволяють повністю оцінити кількісний вміст тіонових бактерій у пробах. Найбільша кількість тіонових бактерій незалежно від дослідженого зразка виросла на середовищі Бейєрінка, а найменша – на середовищі № 4.

Кількість мікроорганізмів у ґрунтах різних біотопів суттєво відрізнялася. Найнижчий показник $4{,}4 \cdot 10^3$ КУО/г сухого ґрунту виявлено у ґрунті, відібраному біля оз. Мойнакське (м. Євпаторія), а найвищий – $3{,}7 \cdot 10^7$ КУО/г (смт Великий Любінь). Кількість тіонових бактерій у воді з оз. Мойнакське становила $4{,}2 \cdot 10^3$, у воді з потічка смт Розділ $5{,}5 \cdot 10^4$, у воді з сірководневого джерела № 17 санаторію "Синяк" – $7{,}0 \cdot 10^4$ і у воді з джерела смт Великий Любінь – $1{,}2 \cdot 10^9$ КУО/мл.

Таким чином, кількість тіонових бактерій у грунтовій і водній пробах, відібраних у тому ж самому місці, не завжди корелювала, лише у грунті біля оз. Мойнакське і у цьому озері вміст цих бактерій був майже однаковий.

Конон А., Пирог Т.

ВПЛИВ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* ЕК-1 НА АНТИМІКРОБНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕФІРНОЇ ОЛІЇ ЧАЙНОГО ДЕРЕВА

Національний університет харчових технологій
вул. Володимирська, 68, м. Київ, 01601, Україна
KononA@meta.ua

Ефірні олії є широко відомими антимікробними препаратами, що використовуються у боротьбі із різними патогенами, проте не завжди вони є ефективними, особливо при дії на резистентні форми мікроорганізмів, тому їх пропонують змішувати з іншими антимікробними агентами (наприклад, синтетичними сурфактантами) для посилення антимікробної дії. Разом з тим, відомо, що поверхнево-активні речовини (ПАР) мікробного походження також синергічно посилюють дію антибіотиків на патогенні дріжджі. Проте у літературі немає даних про посилення антимікробної дії ефірної олії поверхнево-активними речовинами мікробного походження. Ми припустили, що завдяки емульгувальним і антимікробним властивостям ПАР можуть підвищувати ефективність впливу олії на збудників захворювань верхніх дихальних шляхів і ротової порожнини (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Staphylococcus aureus*).

Мета даної роботи – дослідження здатності поверхнево-активних речовин, синтезованих *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1, посилювати антимікробну дію ефірної олії чайного дерева. Приготування препаратів ефірної олії чайного дерева здійснювали відповідно до рекомендацій, викладених в інструкції з її використання. Як емульгатори використовували розчин харчової соди (як вказано в інструкції з використання олії чайного дерева), а також препарати ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 (стерильний супернатант культуральної рідини).

Встановлено, що кількість живих клітин *S. aureus* БМС-1 за використання препарату на основі олії і ПАР знижувалася на 7–9% порівняно із результатами антимікробної дії препарату на основі олії і води і на 5–7 % – у разі дії препарату на основі води і ПАР. Отже, наведені дані свідчать про посилення антимікробної дії олії чайного дерева на клітини бактерій *S. aureus* БМС-1 за присутності поверхнево-активних речовин *R. erythropolis* ЕК-1 у результаті їхніх як антимікробних, так і емульгувальних властивостей.

Схожі результати були одержані при дії препаратів на дріжджові клітини. Препарати на основі ефірної олії чайного дерева проявляли сильну фунгіцидну дію: одразу після внесення препаратів кількість живих клітин знижувалася на 98,3–98,6 %, проте сильнішу антимікробну дію на клітини *C. albicans* Д-6 спричиняв препарат з використанням ПАР *R. erythropolis* ЕК-1.

При дії на клітини мікроміцетів не було виявлено антимікробної дії самих ПАР (виживання *A. niger* Р-3 становило 100 % і через 15 хв експозиції). Разом з тим, за присутності ПАР спостерігали посилення антимікробної дії на клітини *A. niger* Р-3 ефірної олії. За викори-

стання такого препарату виживання клітин через 15 хв після обробки було найнижчим і становило 20–21 %. Очевидно, у цьому разі підвищення ефективності препарату 1 зумовлене емульгувальними властивостями ПАР *R. erythropolis* ЕК-1. За використання препаратів без ПАР спостерігали збільшення кількості живих клітин (до 62 %) через 15 хв експозиції. Ці результати свідчать про фунгістатичну (проте не фунгіцидну) дію олії чайного дерева.

Отже, за одночасного внесення у суспензію досліджуваних тест-культур (10^4–10^5 клітин/мл) емульсії на основі олії чайного дерева (12,5 мкл/мл) і ПАР (0,43 мг/мл) кількість живих клітин через 15 хв експозиції була на 0,7–66 % нижчою, ніж у разі обробки суспензії мікроорганізмів препаратами олії без поверхнево-активних речовин.

Конон А., Скочко А., Пирог Т.

АНТИМІКРОБНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* К-4 І *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* ЕК-1

Національний університет харчових технологій
вул. Володимирська, 68, м. Київ, 01601, Україна
KononA@meta.ua

Мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР) привертають увагу багатьох дослідників, завдяки нетоксичності, біодеградабельності і властивості проявляти антимікробну дію щодо широкого спектру мікроорганізмів, у тому числі мультирезистентних до певних антибіотиків. Механізм антимікробної дії ґрунтується на порушенні функцій мембран клітин, що призводить до затримки їхнього росту або загибелі.

Метою роботи було вивчення антимікробного впливу ПАР *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 і *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 на різні тест-культури. Як препарати поверхнево-активних речовин використовували стерильний супернатант культуральної рідини (неочищений препарат) і стерильний розчин, одержаний після екстракції ПАР із супернатанта, упарювання до сухого залишку та перерозчинення у дистильованій воді (попередньо очищений препарат).

Найбільший антимікробний вплив досліджуваних ПАР спостерігався щодо тест-культури *Bacillus subtilis* БТ-2. За присутності ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 у концентрації 0,98 мг/мл спостерігали загибель понад 90 % клітин тест-культури уже через годину експозиції; присутність ПАР *A. calcoaceticus* К-4 (0,22 мг/мл) забезпечувала 100 % загибель клітин *B. subtilis* БТ-2 незалежно від тривалості обробки. Доведено, що антимікробний вплив ПАР *A. calcoaceticus* К-4 щодо *B. subtilis* БТ-2 залежить від фізіологічного стану тест-культури, причому препарати ПАР ефективніше діяли на спорову культуру (зниження виживання клітин на 75 % через 2 год експозиції), ніж на вегетативні клітини (на 47 % через 2 год). Встановлено, що попередньо очищені препарати ПАР *R. erythropolis* ЕК-1, у значно нижчих концентраціях (0,30 мг/мл) були ефективнішими у 1,5 рази проти добової культури *B. subtilis* БТ-2, ніж неочищені препарати (0,61 мг/мл).

Встановлено, що кількість клітин *Candida tropicalis* ПБТ-5 за присутності ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 знижувалася на 80% із підвищенням концентрації ПАР до 1,44 мг/мл і тривалості обробки до 2 год. Виживання клітин для *Candida albicans* Д-6 за обробки ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 (0,92 і 1,44 мг/мл) становило 26–33 і 44–47 % відповідно. Аналогічно, за присутності ПАР *A. calcoaceticus* К-4 кількість живих клітин *C. albicans* Д-6 збільшувалася від 71 % до 89 % з підвищенням концентрації ПАР від 0,15 мг/мл до 0,22 мг/мл. Отже, для даної тест-культури найвища з досліджуваних концентрації ПАР виявилася менш ефективною.

Показано, що ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 (0,98–1,47 мг/мл) не проявляли антимікробної дії щодо *Escherichia coli* ІЕМ-1 та *Saccharomyces cerevisiae* ОБ-3, тоді як препарати *A. calcoaceticus* К-4 за концентрації 0,22 мг/мл значно знижували виживання цих тест культур: *E. coli* ІЕМ-1 – на 67 %, *S. cerevisiae* ОБ-3 – на 48 %.

Досліджувані ПАР не проявляли антимікробного впливу щодо тест-культур мікроміцетів (*Aspergillus niger* Р-3 і *Fusarium culmorum* Т-7).

Ми припускаємо, що прояв антимікробної активності ПАР може залежати від особливостей будови і хімічного складу клітинних оболонок, ступеня очищення та хімічного складу

самих поверхнево-активних речовин, синтезованих на різних субстратах, і різних адаптаційних реакцій мікроорганізмів на стресові дії. Вирішенню цих питань будуть присвячені наші подальші дослідження.

Купіна Н.

ВПЛИВ СТРЕСОВИХ ФАКТОРІВ НА РІСТ БАКТЕРІЙ І МІКРОМІЦЕТІВ ПРИ СПІВКУЛЬТИВУВАННІ З ПШЕНИЦЕЮ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТУ

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна
пл. Свободи, 4, м. Харків, 61077, Україна
erwinia@i.ua

У природних умовах мікроорганізми взаємодіють з рослинами багатьма способами (Олексін, 2001). Комплекс рослина–мікроорганізм регулярно піддається впливу різноманітних стресових факторів: низьких і високих температур, вологості, інсоляції, pH. При цьому макро- та мікроорганізми реагують на зміни навколишнього середовища певним чином. Вивчення метаболічних стресових зрушень дасть змогу краще зрозуміти шляхи взаємодії мікроорганізмів і рослини.

Характерними представниками ризосферної мікрофлори пшениці є спороутворювальні бактерії, зокрема, види роду *Bacillus*. Також до складу мікоценозу ризосфери пшениці входять мікроміцети родів *Trichoderma* Pers., *Penicillum* Link, *Fusarium* Link, та ін. (Заварзин, 2003; Шабашова, 2004).

Враховуючи викладене вище, метою роботи було на основі даних про ростові реакції бактерій і мікроміцетів різних штамів оцінити вплив холодового стресу на функціонування мікробіоценозу в умовах штучного біогеоценозу.

Об'єктами дослідження були штами бактерій виду *B. subtilis* (019, 020) та мікроміцети *Tr. viride* (0812, 01252) і *P. thomii* (0880, 0886) з колекції кафедри фізіології та біохімії рослин біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна.

У активованих музейних культур мікроорганізмів була виміряна швидкість росту фотоелектроколориметричним методом (для бактерій) та за допомогою лінійного приросту колоній (для мікроміцетів). Після цього частина мікроорганізмів піддавалася холодовому стресові (+4°C) протягом однієї доби, частина ж лишилася для культивування в оптимальних умовах. По закінченні двадцяти чотирьох годин бактерії та мікроміцети були висіяні в стерильний ґрунт разом із насінням озимої пшениці сорту «Василина» і культивувались у факторостатній камері сім діб від моменту проростання пшениці. Потім мікроорганізми виділили на відповідні тверді живильні середовища і через 3-4 доби визначали швидкість їх росту.

У результаті проведеного дослідження було встановлено, що співкультивування мікроорганізмів із пшеницею у штучному біогеоценозі впливає на ростові характеристики як бактерій, так і грибів. При цьому холодовий стрес викликає підвищення швидкості росту бактерій і зниження швидкості росту мікроміцетів. Також було зафіксовано зростання інтенсивності спороношення у мікроміцетів. Співкультивування пшениці з мікроорганізмами, що піддавалися дії холодового стресу, призводить до зменшення вегетативної маси пагона рослини та її кореневої системи. Встановлено, що співкультивування мікроорганізмів різних таксономічних груп із пшеницею, а також холодовий стрес інгібували ріст мікроміцетів роду *Penicillum*.

Лавренюк Л., Мороз О., Борсукевич Б., Звір Г.

ЗАКОНОМІРНОСТІ СУЛЬФАТРЕДУКЦІЇ У БАКТЕРІЙ РОДУ *DESULFOVIBRIO* ВОДОЙМИ КАР'ЄРУ ЯВОРІВСЬКОГО СІРКОВОГО РОДОВИЩА

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
moroz_oksana@yahoo.com

Підвищення інтенсивності процесу дисиміляційної сульфатредукції у сульфатвідновлювальних бактерій, виділених із забруднених як сполуками сірки, так і важкими металами техногенних водних середовищ, важливе для оцінки ефективності їх потенційного використання у біоремедіаційних схемах очистки вод, збагачених органічними сполуками, від іонів важ-

ких металів, сірководню і сульфатів. Метою роботи було дослідити умови утворення максимальної кількості сірководню сульфатвідновлювальними бактеріями, виділеними з водойми кар'єру Яворівського сіркового родовища, для прогнозування можливості їх застосування у біотехнологічних процесах очищення водного середовища від токсичних сполук.

Вивчали вплив різних концентрацій донора електронів дисиміляційної сульфатредукції (лактату натрію) на інтенсивність росту, утворення сірководню та нагромадження ацетату під час культивування сульфатвідновлювальних бактерій *Desulfovibrio sp. Yav-6, Desulfovibrio sp. Yav-8* та *Desulfovibrio desulfuricans Ya-11*. Досліджували чутливість сульфатвідновлювальних бактерій до підвищених концентрацій сірководню.

Бактерії вирощували впродовж 7-10 діб за температури 28° С за анаеробних умов у пробірках об'ємом 25 мл, доверху заповнених середовищем Постгейта С. Для дослідження впливу різних концентрацій лактату натрію на утворення сірководню клітини бактерій висівали в середовище, у якому вміст лактату натрію було збільшено вдвічі (12 г/л) і втричі (18 г/л), порівняно із його стандартним вмістом у середовищі Постгейта С (6 г/л). Густина засіву - 0,05 г/л. На 2, 5 та 10-ту доби культивування визначали біомасу фотоелектроколориметричним, вміст сірководню спектрофотометричним методом і ацетату титрометрично. Для визначення впливу сірководню на ріст бактерій у пробірки, заповнені середовищем без солі заліза, вводили розчин $Na_2S \cdot 9\ H_2O$ у концентраціях 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 12; 15; 17; 19; 22; 25; 27; 28; 30 мМ, а також суспензію клітин (0,2 г/л). Після 7 діб культивування бактерій визначали біомасу.

Встановлено, що зростання концентрації донора електронів (лактату натрію) до 12 г/л у середовищі культивування сульфатвідновлювальних бактерій сприяло активізації процесу дисиміляційної сульфатредукції. Найбільш ефективним продуцентом сірководню серед досліджуваних культур виявилася культура *Desulfovibrio sp. Yav-8*. Якщо при концентрації лактату натрію 6 г/л культура *Desulfovibrio sp. Yav-8* нагромаджувала 7,9 мМ сірководню, то при 12 г/л – 8,2 мМ (*D. desulfuricans Ya-11*: 7,4 мМ). Зростання вмісту лактату натрію у середовищі сприяло збільшенню біомаси та нагромадженню бактеріями ацетату. Гідроген сульфід, доданий у середовище культивування в концентраціях понад 3 мМ, значно інгібував ріст сульфатвідновлювальних бактерій. Оскільки сірководень негативно впливає на розвиток сульфатвідновлювальних бактерій, його усунення зі середовища (наприклад, внаслідок взаємодії з іонами важких металів) є важливим фактором стимуляції процесу сульфатредукції.

Лаврик С., Гнатуш С.

НАГРОМАДЖЕННЯ СІРКИ ПУРПУРОВИМИ СІРКОБАКТЕРІЯМИ, ВИДІЛЕНИМИ З ЯВОРІВСЬКОГО ТА САКСЬКОГО ОЗЕР ЗА УТИЛІЗАЦІЇ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ ТА ТІОСУЛЬФАТУ ЯК ДОНОРІВ ЕЛЕКТРОНІВ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна,
sofi_lavryk@email.ua

Пурпурові фотосинтезувальні бактерії поширені у водоймах, збагачених сірководнем. Вони заселяють прісні, солоні, содові водойми, виявлені у водах моря та океану. Ці мікроорганізми поширені як у глибоководних ділянках, так і у відносно мілких прибережних зонах. Основними факторами, що визначають розвиток і видовий склад пурпурових фотосинтезувальних бактерій є освітленість, концентрація кисню та відновлених сполук сірки. Як донор електронів у процесі аноксигенного фотосинтезу більшість пурпурових сіркових бактерій родини *Chromatiaceea* використовує гідроген сульфід чи елементну сірку, які утворюють значні резервуари у природі, а також проміжні сполуки окиснення сірки, такі як тіосульфат. Хоча останній з'являється у транзитній формі і незначних концентраціях, наприклад, у мікробних матах, де здійснюється практично повний цикл сірки, більшість видів пурпурових сіркобактерій можуть утилізувати його як донор електронів у процесі фотосинтезу. Здатність використовувати декілька донорів електронів забезпечує виживання пурпурових сіркобактерій в умовах зміни градієнтів цих сполук у природних умовах.

Пурпурові сіркобактерії роду *Thiocystis* штамів *Ya2008/C* (виділений з Яворівського озера, Львівська обл.) та *Sa2008/D* (виділений із Сакського озера, АР Крим) як донор електронів у процесі аноксигенного фотосинтезу утилізують не лише гідроген сульфід, а й тіосульфат. Проміжним продуктом окиснення цих сполук є елементна сірка, яка відкладається у вигляді глобул всередині клітин. Вона є резервним донором електронів і залучається у фотосинтетичний процес за дефіциту чи відсутності екзогенного донора електронів. Тому, нагромадження і утилізація сірки, а,отже, і її кількість у клітинах безпосередньо залежать від концентрації донора електронів у середовищі.

Нагромадження сірки досліджуваними бактеріями вивчали за внесення у середовище 0,05-0,3% натрій сульфіду чи натрій тіосульфату. Було виявлено, що найвищий приріст її кількості у штамів *Ya2008/C* та *Sa2008/D* забезпечує внесення 0,3% натрій сульфіду. Зокрема, вміст внутрішньоклітинної сірки у штаму *Ya2008/C* зріс у 4,5 рази і був максимальним на шосту добу культивування, а у штаму *Sa2008/D* − у шість разів, причому найбільше сірки у клітинах виявили на третю добу росту. Досліджувані бактерії швидко утилізували гідроген сульфід, його концентрація у середовищі суттєво знижувалась за перші три доби росту. За дефіциту гідроген сульфіду як донор електронів бактерії використовували запасну сірку, внаслідок чого її кількість у клітинах знижувалась, а у середовищі нагромаджувались сульфати – кінцеві продукти її асиміляції.

Як і за внесення гідроген сульфіду, найбільше сірки досліджувані бактерії нагромаджували за внесення 0,3% натрій тіосульфату. За таких умов вміст сірки у штаму *Ya2008/C* підвищився у п'ять разів, а у штаму *Sa2008/D* – у сім разів і був максимальним на вісімнадцяту добу росту.

Обидва штами утилізували тіосульфат повільніше, ніж гідроген сульфід. Зокрема на третю добу росту його концентрація у середовищі в середньому знижувалась менше ніж на 40%, за цей же час бактерії утилізували в середньому 80% гідроген сульфіду середовища. Нестача тіосульфату спричиняла утилізацію запасної сірки, проте за внесення 0,25−0,3% натрій тіосульфату дефіциту екзогенного донора не спостерігали. Тому штами *Ya2008/C* та *Sa2008/D* нагромаджували сірку протягом усього періоду культивування.

Таким чином, внесення у культуральне середовище гідроген сульфіду чи тіосульфату забезпечує нагромадження сірки досліджуваними штамами. За росту на середовищі з гідроген сульфідом максимальна величина сіркового резерву у штамів *Ya2008/C* та *Sa2008/D* становила 0,36 та 0,38 г сірки на 1 г сухої маси клітин, а за внесення тіосульфату − 0,38 та 0,39г на 1 г сухої маси відповідно.

Лапковська О., Дуфанець О., Звір Г., Мороз О.

ВПЛИВ СОЛЕЙ ЦИНКУ У ВИСОКИХ КОНЦЕНТРАЦІЯХ НА СТАН АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ *DESULFOVIBRIO DESULFURICANS*

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського 4, м. Львів 79005, Україна
moroz_oksana@yahoo.com

Окисно-відновні процеси становлять важливу частину будь-якої ланки метаболізму і необхідні як для забезпечення енергетичних потреб, так і для постачання та утилізації кисню. Ці процеси контролюються різними регуляторними системами з метою підтримання збалансованої взаємодії реакцій утворення продуктів окиснення, а також механізмів контролю, що ведуть до їх гальмування при надлишковій активності реакцій антиоксидації.

Для захисту від оксидативного стресу мікроорганізми виробили свої механізми захисту, адже добре відомо, що відновлення кисню до води під час мікробного дихання закінчується такими проміжними сполуками, як супероксид-аніон та перекис водню, які є токсичними для клітини.

Ферменти антиоксидантного захисту, такі як супероксиддисмутаза (СОД) і каталаза, добре вивчені в аеробних мікроорганізмів, проте мало відомо про них та механізми, що регулюють їхню експресію, в анаеробних бактерій. Відсутність ефективних механізмів захисту від токсичного впливу продуктів неповного відновлення O_2 у клітинах анаеробів тривалий час вважали поясненням їхньої чутливості до кисню та загибелі в аеробних умовах. Недавно встановлено,

що багато строгих анаеробів (у тому числі і сульфатвідновлювальні бактерії родів *Desulfotomaculum* та *Desulfovibrio*) мають каталазну та супероксиддисмутазну активності.

СОД відіграє одну з ключових ролей в антиоксидантному захисті. Разом з каталазою та іншими ферментами вона захищає організми від високотоксичних кисневих радикалів. Як відомо, супероксиддисмутаза містить в активному центрі іони металу. У *D. desulfuricans* СОД містить іони цинку та купруму. Цинк у складі ферменту виконує стабілізуючу функцію, забезпечуючи відповідну конформацію білка. Разом з тим відома і токсична дія підвищених концентрацій цього металу на мікроорганізми. Нашими попередніми дослідженнями показано, що у невисоких концентраціях (0,5-2,5 мМ) цинк стимулює ріст *D. desulfuricans* і активність супероксиддисмутази.

Тому метою роботи було дослідження впливу високих концентрацій іонів цинку на активність супероксиддисмутази і каталази сульфатвідновлювальних бактерій.

У роботі використана культура *D. desulfuricans* Ya-11, виділена з водойм Яворівського сіркового родовища. Бактерії вирощували у середовищі Кравцова-Сорокіна за анаеробних умов протягом 12 діб за зростаючих концентрацій іонів цинку (2,0-16,0 мМ).

Внесення у середовище культивування *D. desulfuricans* іонів цинку призводило до пригнічення росту культури, що, можливо, є наслідком впливу цього металу на енергетичні процеси бактерійних клітин. Дослідження питомої активності каталази та СОД показало максимальні показники у перші 2-4 доби з подальшим зниженням після 6-ї доби культивування. Під впливом невисоких концентрацій солей цинку (2,0-4,0 мМ) активність СОД зростала порівняно з контролем в 1,5 разу. Підвищення концентрації іонів цинку до 16,0 мМ призводило до пригнічення активності супероксиддисмутази у 6 разів. Внесення у середовище культивування іонів цинку пригнічувало каталазну активність досліджуваних мікроорганізмів у 1,2-7 разів.

Левицька О., Гудзь С.

НАГРОМАДЖЕННЯ ГЛІКОГЕНУ В КЛІТИНАХ *CHLOROBIUM LIMICOLA* ПРИ ЗМІНІ УМОВ АЗОТНОГО ЖИВЛЕННЯ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
o_levytska@yahoo.com

Зелені сіркові бактерії – облігатні фотолітоавтотрофи, що здійснюють фотосинтез за рахунок функціонування відновного циклу трикарбонових кислот (циклу Арнона) (Eisen, 2002). Крім метаболітів для побудови клітини цикл забезпечує синтез глікогену – резервного полісахариду, підвищений синтез якого відбуваться при незбалансованому рості й забезпечує виживання мікроорганізмів у середовищах за екстремальних умов (Mas, 1995), в тому числі за дефіциту азоту й фосфору (Baneras, 1998).

Досліджено здатність зелених сіркових фотосинтезувальних бактерій *Chlorobium limicola* засвоювати різні форми азоту. Бактерії використовують амонійний, амінний та молекулярний азот. Показано, що нітрати не тільки не засвоюються *C. limicola*, а й інгібують використання амонію клітинами. Встановлено, що дефіцит амонійного азоту і/або наявність нітратів у середовищі стимулюють утворення глікогену. Нагромадженню глікогену у клітинах *C. limicola* сприяє також дефіцит фосфату в середовищі. У процесі асиміляції нітратів на початкових етапах росту культури спостерігається утворення нітритів у клітинах і середовищі, рівень яких швидко знижується. Досліджено вплив аналога ацетату – йод ацетату – та антиметаболіту малату (субстрату фумарази) на синтез глікогену клітинами *C. limicola*. Показано, що йод ацетат, нітрат і нітрит пригнічують активність фумарази – одного із ключових ферментів циклу Арнона,–що свідчить про можливість використання їх як регуляторів утворення глікогену досліджуваними бактеріями.

Таким чином *C. limicola* здатні використовувати як джерела азоту сполуки амонію, амінний та молекулярний азот. Нітрати та нітрити не засвоюються клітинами. Вони виявляють регулюючу дію на транспорт амонію в клітини і беруть участь у регуляції циклу Арнона. Ефективним регулятором утворення глікогену виявився йод ацетат.

Литвин В.[1], Колісник Я.[1], Гураль С.[2]

ПОЗИТИВНА СЕЛЕКЦІЯ ДРІЖДЖІВ *PHAFFIA RHODOZYMA*

[1]Кафедра мікробіології, Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна, microbiol@franko.lviv.ua
[2]Інститут біології тварин УААН,
вул. В.Стуса, 38, м. Львів, 7934, Україна, inenbiol@mail.lviv.ua

Пошук біологічно активних речовин, що синтезуються мікроорганізмами, залишається актуальним завданням сучасної біотехнології. Це обумовлено можливістю отримання шляхом мікробіологічного синтезу різних продуктів, багатих на вітаміни, ліпіди, білки, мікроелементи та інші біологічно активні речовини. У зв'язку з тим, що дріжджі здатні синтезувати широкий спектр таких речовин, а також володіють здатністю в процесі ферментації накопичувати достатню кількість біомаси і рости на дешевих середовищах, ця група мікроорганізмів займає міцні позиції в сучасній біотехнології, в тому числі і в галузі мікробіологічного синтезу каротиноїдів.

Очевидна доцільність пошуку високопродуктивних штамів, розробки оптимальних способів культивування пігментутворюючих дріжджів і отримання каротиноїдів.

Шляхом селекції дикого штаму дріжджів *P. rhodozyma* NRRL- Y17268 нами отримано мутанти з підвищеним рівнем синтезу каротиноїдів. Для селекції як мутагенний фактор використовували ультрафіолетові промені, які індукують у клітинах дріжджів широкий спектр мутацій, зокрема, і тих, що пошкоджують регуляторні гени каротиногенезу. Для дослідження впливу тривалості УФ опромінення на виживання клітин дріжджів і частоту виникнення мутантів, їх опромінювали протягом 5, 10, 15 і 20 хв.

Зі збільшенням часу експозиції виживання клітин зменшувалось від 66,2% при опроміненні протягом 5 хв до 0,2% - при часі 20 хв. Найбільшу кількість мутантів виявлено і відібрано з культури, яку опромінювали 15 хв. У їх клітинах виявлено в 1,2-1,6 разу більше каротиноїдів, ніж у клітинах вихідного штаму. Поряд із цим селекціоновані штами не лише синтезують у значних кількостях дані пігменти, а й, на відміну від дикого штаму дріжджів *P. rhodozyma* NRRL- Y17268, нагромаджують в 1,5 рази більше біомаси.

Відомо, що солі важких металів спричиняють оксидативний стрес. При високих концентраціях цих сполук будуть виживати лише ті клітини, які мають підвищену здатність до антиоксидантного захисту. Оскільки каротиноїди належать до неферментативної ланки систем антиоксидантного захисту, то клітини, які виживають за таких умов, можуть мати підвищений вміст каротиноїдів.

Додавання в середовище культивування солей Кадмію і Купруму не посилювало природної мінливості дріжджів *P. rhodozyma* за ознакою каротиногенезу. Внесення в рідке середовище 0,25 мкМ і більше $CuSO_4$ не пригнічувало росту культури, проте помічено, що збільшенням концентрації солі Купруму відбувалося помітне зниження вмісту каротиноїдів у біомасі дріжджів мутантного штаму *P. rhodozyma* УФ4. Відомо, що при взаємодії з вільними радикалами каротиноїди можуть перетворюватися в перекиси, епоксиди, спирти, кетони і маловивчені полімери. Очевидно, такими процесами можна пояснити зниження вмісту каротиноїдів у клітинах дріжджів, які вирощували при підвищеній концентрації солі Купруму в середовищі.

У подальших дослідженнях, використовуючи як мутаген УФ-промені та селективне середовище з іонами Cd^{2+}, Cu^{2+}, ми отримали високопродуктивний штам дріжджів *P. rhodozyma* 5·1.28, який синтезує у 4,6 разу більше каротиноїдів, ніж дикий штам *P. rhodozyma* NRRL- Y17268.

Литвин В.[1], Колісник Я.[1], Гураль С.[2]

ВПЛИВ ПЕРОКСИДУ ВОДНЮ НА СИНТЕЗ КАРОТИНОЇДІВ ДРІЖДЖАМИ *PHAFFIA RHODOZYMA*

[1]Кафедра мікробіології, Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна microbiol@franko.lviv.ua
[2]Інститут біології тварин УААН,
вул. В.Стуса, 38, м. Львів, 7934, Україна, inenbiol@mail.lviv.ua

Із продуктів мікробного синтезу особливий інтерес представляють каротиноїди, що є найбільш численною і поширеною групою природних пігментів. З кожним роком потреба в каротиноїдах зростає, що потребує розширення потенційних джерел їх отримання.

Дріжджі *Phaffia rhodozyma* синтезують каротиноїд астаксантин, який є сильним антиоксидантом. Впливаючи на стан і проникність біологічних мембран, він виявляє протекторну дію на організм, знижуючи токсичний вплив ксенобіотиків. Дослідження цих та інших каротиноїдів сприяло зростанню попиту на ці сполуки як на цінні кормові добавки. Виробництво синтетичного астаксантину виявилося надзвичайно дорогим, що обумовило необхідність розробки природних джерел каротиноїдів. Єдиними відомими дріжджами, які продукують астаксантин, є *P. rhodozyma.* Тому їх почали використовувати у США та інших країнах як обов'язкову добавку до кормового раціону деяких тварин.

Для підвищеного синтезу каротиноїдів клітинами дріжджів *P. rhodozyma* важливе значення має не тільки генотип, але і умови їх культивування. У літературі наводяться окремі повідомлення, що внесення у середовище H_2O_2 підвищує синтез каротиноїдів.

Метаболізм *P. rhodozyma*, пов'язаний з біосинтезом каротиноїдів і, зокрема, астаксантину, є надзвичайно оксиген-залежним. За математичними підрахунками, для синтезу однієї молекули астаксантину необхідна двадцять одна молекула кисню. Отже, підвищення концентрації активних форм кисню (супероксид-радикал, гідроксил-радикал, пероксид-радикал) повинно стимулювати синтез каротиноїдів, у тому числі й астаксантину. Найбільш активним є гідроксил-радикал, який утворюється в реакціях Габера-Вайса та Фентона, за участю пероксиду водню й іонів перехідних металів.

У першій серії експериментів нами з'ясовано вплив різних концентрацій пероксиду водню на виживання клітин дріжджів *P. rhodozyma* 5·1,28; *P. rhodozyma* NRRL - Y17268, *Saccharomyces cerevisiae* ВКМ 5021 на різних стадіях росту культури з метою вибору оптимальної концентрації досліджуваної сполуки та часу її внесення.

Високопродуктивний штам *P. rhodozyma* 5·1,28 виявився стійкішим в експоненціальній фазі росту і чутливішим у стаціонарній фазі порівняно з диким штамом *P. rhodozyma* NRRL - Y17268, у якого чутливість з віком збільшувалася незначно. Стійкість до 2мМ H_2O_2 у *S. cerevisiae* ВКМ 5021 з віком підвищувалась. Проте стійкість до H_2O_2 мутантного штаму дріжджів *P. rhodozyma* 5·1,28 протягом перших двох діб культивування була значно вищою, ніж дикого штаму. Це може вказувати на певну роль каротиноїдів у захисті клітин цих дріжджів від активних форм кисню.

У результаті додавання 2 мМ пероксиду водню до середовища продуктивність культури дріжджів *P. rhodozyma* 5·1,28 зростала на 17,5 – 25 %. Ці результати підтверджують концепцію, що каротиноїди виконують захисну антиоксидантну роль у клітинах дріжджів *P. rhodozyma*.

Отже, отримані результати свідчать, що як елемент технології культивування каротинсинтезуючих дріжджів можна застосовувати внесення пероксиду водню у середовище. Це дає можливість підвищити вміст каротиноїдів у біомасі, тобто продуктивність культури.

Лупак М.[1], Демків О.[2], Гончар М.[2], Климишин Н.[1]

АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ ОКИСЛЕННЯ ФОРМАЛЬДЕГІДУ В РЕКОМБІНАНТНОГО ШТАМА *HANSENULA POLYMORPHA*

1Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
2Інститут біології клітини НАН України
вул. Драгоманова, 14/16, м.Львів, 79005, Україна
demkiv@yahoo.com

Ферменти стали незамінним інструментом сучасної аналітичної біотехнології, яка поєднала досягнення аналітичної біохімії, ензимології, імунології, генної інженерії та електроніки в єдиному руслі – створенні новітніх методів аналізу та виробництві біоаналітичних продуктів.

Формальдегід (ФА) є універсальним природним метаболітом, тому вивчення природних механізмів його детоксикації у живих системах є дуже актуальною проблемою, і метилотрофні дріжджі можуть служити зручною моделлю для таких досліджень. Вони мають кілька ефективних механізмів підтримання цитозольного пулу ФА на нетоксичному рівні: компартменталізація його у пероксисомах, та синтезу ряду ферментів, здатних перетворювати ФА у

нетоксичні продукти (формальдегіддегідрогеназа, форміатдегідрогеназа, формальдегідредуктаза, метилформіатсинтази, дигідроксиацетонсинтаза). Вивчення механізмів утворення і детоксикації ФА в живих системах є актуальною проблемою і зумовлює пошук та генетичне конструювання дріжджових продуцентів ферментів, що беруть участь у метаболізмі ФА.

Наші дослідження скеровані на аналіз активності деяких дріжджових ферментів, що беруть участь у метаболізмі ФА, а саме: NAD- і глутатіон-залежної формальдегіддегідрогенази (ФдДГ), форміатдегідрогенази (ФДГ), алкогольоксидази (АО), метилформіатсинтази (МФС) і формальдегідредуктази (ФР), в залежності від умов культивування рекомбінантного штама-продуцента ФдДГ метилотрофних дріжджів *Hansenula polymorpha*. Найвища активність ФдДГ і ФДГ спостерігається в ранній логарифмічній фазі росту, а АО - в експоненційній фазі росту при культивуванні на середовищі з метанолом або формальдегідом. При використанні метанолу (2%) або формальдегіду (5 мМ) як єдиного джерела вуглецю питома активність ФдДГ і ФДГ в безклітинних екстрактах штама досягала 6.0 Од./мг і 0.3 Од./мг, що є вище, ніж при культивуванні цього штама у середовищі з нижчими концентраціями метанолу (0,5%) або ФА (2,5 мМ). Також активності вище згаданих ферментів зростають при додаванні ФА до середовища з різними джерелами вуглецю, особливо у випадку використання гліцеролу та метанолу, що демонструє важливу роль ФдДГ, ФДГ в детоксикації ФА.

При культивуванні клітин в середовищі з етанолом (стаціонарній фазі росту) рівні активності МФС та ФР в безклітинних екстрактах були максимальними - у порівнянні з клітинами, вирощеними на метанолі. Показано, що рекомбінантний штам Tf 11-6 за певних умов культивування може бути надпродуцентом не тільки ФдДГ, але і ФДГ, МФС, і може бути використаний як в біоремедіаційних цілях, так і в біосенсорних технологіях для аналізу ФА.

Робота виконана за фінансової підтримки НАН України в рамках наукового проекту 6/1-2010 комплексної науково-технічної програми “Сенсорні системи для медико-екологічних та промислово-технологічних потреб“ та МОН України в рамках спільного українсько-ізраїльського проекту “Контроль вмісту формальдегіду в повітрі за допомогою біосенсорів на основі формальдегіддегідрогенази та його усунення біореактором з іммобілізованою алкогольоксидазою”.

Малишева О., Яворська Г.

ЗДАТНІСТЬ БАКТЕРІЙ *DESULFOVIBRIO DESULFURICANS YA-11* РОСТИ У ПРИСУТНОСТІ СОЛЕЙ КУПРУ МУ ТА ЦИНКУ

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

Важливою проблемою сучасності є підвищення рівня антропогенного забруднення навколишнього середовища важкими металами. Важкі метали є токсичними для всіх живих організмів. Потрапляючи у довкілля, різні сполуки металів мігрують і можуть нагромаджуватись у харчових ланцюгах. У малих концентраціях метали являють собою мікроелементи, необхідні для нормальної життєдіяльності мікроорганізмів. Деякі групи мікроорганізмів здатні використовувати певні сполуки важких металів у нетоксичних концентраціях як кінцевий акцептор електронів. Сульфатвідновлювальні бактерії є важливою ланкою природного циклу сірки. Вони здійснюють дисиміляційне відновлення сульфатів і зв’язують потоки вуглецю та сірки в анаеробних біотопах, що містять сульфат [Валерко Р.А., 2004]. Особливо важлива роль належить сульфатвідновлювальним бактеріям у місцях розробки сіркових родовищ, де внаслідок природного окиснення сірки утворюється величезна кількість сульфатів, які відновлюються даними мікроорганізмами до сірководню. Незважаючи на значні успіхи у дослідженні сульфатвідновлювальних бактерій, нез’ясованими залишаються ще багато питань, серед яких і можливість використання даними мікроорганізмами різних акцепторів електронів.

Метою роботи було з’ясувати вплив солей купруму та цинку на ріст сульфатвідновлювальних бактерій *Desulfovibrio desulfuricans Ya-11*.

Для визначення впливу солей купруму та цинку на ріст сульфатвідновлювальних бактерій у пробірки, заповнені рідким середовищем Постгейта С і модифікованим середови-

щем Постгейта С (без сульфатів), додавали розчин купрум хлориду або цинк карбонату у концентраціях 3, 4, 5, 6, 8, 10 мМ. Густина засіву – 0,15-0,2 г/л. На 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14 доби визначали біомасу з використанням фотоелектроколориметра КФК – 3.

Показано, що внесення Cu (II) або Zn (II) у концентраціях 3–8 мМ суттєво не впливало на нагромадження біомаси та відновлення сульфатів. Такі концентрації досліджуваного металу не призводили до зниження швидкості росту бактерій і нагромадження біомаси. Цікавим виявилося те, що присутність іонів міді або цинку в середовищі культивування, навіть у концентрації 10 мМ, не сприяла відмиранню клітин, однак знижувала швидкість росту культури у 1,3 або 2 рази відповідно на четверту добу росту.

За відсутності у середовищі сульфатів і наявності металу в усіх досліджених концентраціях, сульфатвідновлювальні бактерії до четвертої доби добре росли, однак після цього показник біомаси був дещо нижчим, ніж у контролі. Можливо, це пов'язано зі швидким вичерпуванням такого джерела живлення.

Отже, сульфатвідновлювальні бактерії *Desulfovibrio desulfuricans Ya-11* за умов відсутності у середовищі сульфатів, очевидно, здатні використовувати іони купруму та цинку як акцептори електронів.

Мерлич А., Халахурда Д., Гаврик А., Сергєєва Ж., Ліманська Н.

БАКТЕРІОЦИНОГЕННА АКТИВНІСТЬ ПРЕДСТАВНИКІВ МІКРОБІОТИ ВИНОГРАДУ

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова
вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65082, Україна

Бактеріоциногенія - біологічний феномен, пов`язаний з антагонізмом бактерій. Бактеріоцини білкової або нуклеотидної природи здатні пригнічувати ріст споріднених бактерій (Егоров, 1999). Використання бактеріоцинів є перспективним у системі захисту рослин проти низки бактеріальних фітопатогенів, у тому числі – проти збудників бактеріального раку винограду (*Rhizobium vitis* і *R. radiobacter*) (Young, 2001). Становить інтерес вивчення загального антагоністичного потенціалу представників мікробіоти рослин.

Метою дослідження було виявлення бактеріоциногенної активності штамів – представників мікробіоти рослин, виділених із пухлини, спричиненої збудниками бактеріального раку винограду.

Усього було досліджено 8 штамів ендофітної мікробіоти рослини. Для перевірки бактеріоциногенної активності отримували 24-годинну культуру бактерій. Газон для перевірки культури готували наступним чином: з добової культури готували тригодинну, вносили 400 мкл її у верхній напіврідкий агар (0,4 % середовище Lb) та вливали у чашки із нижнім твердим агаром (1,4 % Lb), рівномірно розподіляючи по поверхні. Для отримання бактеріоцинів добові культури осаджували на центрифузі (15 хв при 13400 об/хв). Відібрали надосадову рідину, яка містила бактеріоцини. Цю надосадову рідину наносили у кількості 5 мкл на газон тест-культури у двох повторах. Чашки інкубували добу при 28.С, а потім врахували наявність зон лізису (Tovkach, 1998).

З 8 досліджених штамів один проявив добре виражену бактеріоциногенну активність. Він спричиняв лізис 50% досліджених тест-культур. У той самий час його бактеріоцини не були факторами автолізу, оскільки вони не спричиняли лізису власної культури.

Зони лізису, спричинені бактеріоцинами даного штаму, були досить великими і становили 1,5–2,5 см у діаметрі, залежно від тест-культури.

Наявність антагоністів серед представників нормальної мікробіоти рослини свідчить про можливість використання їхніх бактеріоцинів для боротьби з фітопатогенами. Наступним кроком у дослідженнях буде випробування дії антагоністичних речовин штама-антагоніста на культури збудників бактеріального раку.

Роботу було виконано у рамках проекту Міністерства освіти і науки України № НУ/448-2009 від 06.07.2009.

Мирончук В., Мороз О., Клим І., Борсукевич Б.

ВПЛИВ ІОНІВ НІКЕЛЮ, МАРГАНЦЮ ТА ЗАЛІЗА НА РІСТ І ОКИСНЕННЯ СІРКОВОДНЮ *CHLOROBIUM LIMICOLA*

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
moroz_oksana@yahoo.com

Фототрофні сіркові бактерії, які населяють освітлені глибинні шари водойм, – це специфічна група мікроорганізмів, що здійснюють аноксигенний фотосинтез, використовуючи сірководень як донор електронів. Завдяки зеленим та пурпуровим сіркобактеріям водойми очищуються від H_2S. Фотосинтезувальні сіркобактерії не дають змоги сірководню поширюватися у верхні шари води, що забезпечує можливість розвитку там багатьох рослинних і тваринних організмів. Метою роботи було вивчити вплив солей нікелю, марганцю та заліза на ріст і окиснення сірководню зеленими фотосинтезувальними сіркобактеріями *Chlorobium limicola,* виділеними з водойми кар'єру Яворівського сіркового родовища.

Фотосинтезувальні зелені сіркобактерії культивували в анаеробних умовах при освітленні у пробірках, об'ємом 25 мл, у середовищі GSB впродовж 10 діб при 30° С. Для створення анаеробних умов пробірки повністю заповнювали середовищем і закривали гумовими корками. Зелені сіркобактерії освітлювали (з інтенсивністю 40 лк) променями з довжиною хвиль 700-800 нм. Для вивчення впливу іонів важких металів на ріст штаму *C. limicola Ya-2002* клітини вирощували до середини експоненційної фази росту, осаджували центрифугуванням при 5 тис. об/хв впродовж 40 хв та інкубували впродовж 1 години зі солями металів: $NiCl_2$, $MnSO_4$, $FeSO_4 \cdot 7\ H_2O$, у концентраціях: 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4 мМ. Клітини двічі відмивали дистильованою водою, осаджували центрифугуванням і висівали в пробірки (густина засіву – 0,15 г/л). Культивували впродовж 10 діб за анаеробних умов при освітленні, визначали біомасу на фотоелектроколориметрі КФК-3. Для вивчення впливу важких металів на ріст і утилізацію сірководню *C. limicola Ya-2002* клітини, інкубовані в присутності солей металів (0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4 мМ) впродовж 1 години, двічі відмивали, осаджували центрифугуванням, однакову кількість клітин (0,15 г/л) висівали в пробірки, вирощували за анаеробних умов при оптимальному освітленні. Після 3, 5 та 7 діб росту визначали біомасу та сірководень (титрометрично) у культуральній рідині.

Встановлено мінімальні інгібуючі ріст штаму *C. limicola Ya-2002* концентрації солей важких металів: $NiCl_2$ (2,5 мМ), $MnSO_4$ (>4 мМ), $FeSO_4 \cdot 7\ H_2O$ (>4 мМ). Доведено негативний вплив іона нікелю на ріст і утилізацію сірководню *C. limicola Ya-2002*. Під впливом 1 мМ іона нікелю значно знижується здатність *C. limicola Ya-2002* утилізувати сірководень. Виявлено, що іон марганцю інгібує ріст і окиснення сірководню *C. limicola Ya-2002.* За впливу 1,5 мМ Mn^{2+} значно знижується здатність *C. limicola Ya-2002* до утилізації сірководню. Показано, що іон заліза пригнічує ріст і фотоасиміляцію сірководню *C. limicola Ya-2002*. Виявлено зниження здатності бактерій, інкубованих у присутності 2 мМ солі заліза, окиснювати сірководень.

Таким чином, виявлено негативний вплив солей нікелю, марганцю та заліза на ріст і утилізацію сірководню клітинами зелених фотосинтезувальних сіркобактерій, виділених з водойми кар'єру Яворівського сіркового родовища. Можна вважати, що штам зелених фототрофних сіркобактерій *C. limicola Ya-2002* виявився стійким до високих концентрацій солей важких металів, є адаптованим до несприятливих факторів середовища і придатним для використання у біотехнологічних процесах, спрямованих на очищення довкілля від сірководню.

Мутенко Г., Кушкевич І., Гнатуш С.

АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА БАКТЕРІЙ *DESULFOVIBRIO DESULFURICANS* YA-11 ЗА ВПЛИВУ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
mutenko@ukr.net

Бактерії *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 є анаеробами, які здатні виживати в мікроаерофільних та аеробних умовах при обмілінні водойм. Це обумовлено функціонуванням у них ферментів антиоксидантного захисту, зокрема, каталази, супероксид-

дисмутази та пероксидазно-редуктазної системи глутатіону. Остання активується за впливу токсичних сполук на клітини мікроорганізмів.

Метою нашої роботи було дослідити активність деяких ферментів антиоксидантного захисту (каталази, супероксиддисмутази) та визначити загальний вміст глутатіону клітин *D. desulfuricans* Ya-11 за впливу різних концентрацій солей металів.

З метою дослідження впливу солей важких металів на активність каталази, супероксиддисмутази та загальний вміст глутатіону, бактерії вирощували за внесення $CuCl_2$, $CdCl_2$, $Pb(NO_3)_2$, $ZnCl_2$ у середовище. У контроль солей важких металів не вносили. Безклітинні екстракти одержували, руйнуючи клітини на ультразвуковому гомогенізаторі УЗДН–2Т при 22 кГц протягом 5 хв при 0^oC. Концентрацію білка в безклітинних екстрактах визначали методом Лоурі. Активність каталази визначали спектрофотометрично за кількістю ферментованого гідроген пероксиду. Активність супероксиддисмутази визначали за ступенем інгібування нею автоокиснення кверцетину, концентрацію якого вимірювали спектрофотометрично. Загальний вміст глутатіону визначали спектрофотометрично за кількістю утвореної тіобензойної кислоти з дитіобіснітробензонату.

Найбільшу активність каталази ($42,67 \cdot 10^{-2}$ мкмоль/хв·мг білка) було виявлено у середовищі з плюмбум нітратом. Низьку активність досліджуваного ферменту при тривалому витримуванні бактерій виявлено за внесення цинк хлориду. На основі результатів досліджень побудовано ряд дії солей важких металів на активність каталази бактерій *D. desulfuricans* Ya-11: $ZnCl_2 < CuCl_2 < CdCl_2 < Pb(NO_3)_2$.

Активність супероксиддисмутази зменшувалася, порівняно з контролем, на першу і третю доби культивування у середовищі з кадмій хлоридом. Активність ферменту була значною за внесення у середовище солей Плюмбуму та Цинку. Побудовано ряд дії солей важких металів на активність супероксиддисмутази бактерій *D. desulfuricans* Ya-11: $ZnCl_2 > Pb(NO_3)_2 > CdCl_2 > CuCl_2$.

Вміст глутатіону зростав, порівняно з контролем, протягом трьох діб вирощування із досліджуваними солями металів. Найбільшим він був ($9,70 \cdot 10^{-2}$ ммоль/г клітин) при внесенні у середовище плюмбум нітрату за концентрації 1,5 мМ солі металу на першу добу. На основі одержаних результатів побудовано ряд дії солей важких металів на вміст глутатіону в клітинах *D. desulfuricans* Ya-11: $CdCl_2 < ZnCl_2 < CuCl_2 < Pb(NO_3)_2$.

Згідно з результатами досліджень, активність каталази корелює з вмістом глутатіону за впливу солей металів. Зменшення вмісту глутатіону при тривалій дії солей, але значне його зростання при короткочасному культивуванні з іонами металів, очевидно, свідчить про залучення даного трипептиду у первинній відповіді клітини на вплив цих ксенобіотиків. Зростання активності супероксиддисмутази за дії солей Кадмію, Купруму, Плюмбуму та Цинку, очевидно, спричинене утворенням у клітинах супероксиданіону, а також залученням іонів Купруму та Цинку в активні центри даного ферменту.

Огороднійчук Ю., Стародуб М.

РОЗРОБКА ОПТИЧНОГО ІМУННОГО БІОСЕНСОРА НА ОСНОВІ ПОВЕРХНЕВОГО ПЛАЗМОННОГО РЕЗОНАНСУ ДЛЯ КОНТРОЛЮ РІВНЯ ПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна
ogorodniichuk@mail.ru

Постійне зростання показників харчових отруєнь стало суттєвою проблемою світового рівня. Одним із видів патогенних мікроорганізмів, які порушують безпеку продуктів харчування і завдають значної шкоди харчовій промисловості є *Salmonella sp*. Більше того, інфекційні захворювання, викликані представниками даного виду, є також серйозною проблемою для медичної галузі та ветеринарії (Зарицкий А.М., 1988).

Традиційні методи для визначення *Salmonella sp* в продуктах харчування становлять складний процес, що включає попереднє збагачення, вибіркове збагачення, біохімічне тестування і серологічне підтвердження. Загалом такий метод визначення *Salmonella sp* займає від

3 до 5 днів (M. Isabel Pividori et al, 2003). Для подолання таких суттєвих недоліків традиційних аналітичних підходів необхідно впроваджувати нові інструментальні методи, у тому числі й ті, що базуються на принципах біосенсорики (Son J. R. et al, 2007).

Останнім часом метод поверхневого плазмонного резонансу (ППР) широко використовується для якісного і кількісного визначення патогенних мікроорганізмів. Нами було розроблено імунний біосенсор, на основі ППР для визначення *Salmonella typhimurium*. Як основу реєструючу частину використано портативний прилад Spreeta. Він під'єднується безпосередньо до комп'ютера й одночасно реєструє і обробляє отриманий оптичний сигнал. Більше того, він може бути з'єднаний з GPS системою, вбудованою в радіопередавач, що дозволяє миттєво передавати отримані результати в стаціонарну лабораторію для подальшого аналізу і прийняття відповідних рішень для запобігання розповсюдження інфекції.

Процедура підготовки трансдюсера включає декілька етапів: 1) очищення поверхні етанолом, 2) покриття її поліаліліаміном гідрохлоридом, 3) нанесення протеїну А від *Staphylococcus aureus*, 4) нанесення і зв'язування специфічних антитіл. Перша ППР крива фіксується, коли чутлива поверхня приладу вкрита шаром специфічних антитіл. Потім на чутливу поверхню наносять краплю досліджуваного розчину. Відповідно, якщо в розчині міститься антиген, тобто за наявності в ньому клітин *S. Typhimurium,* то при подальшому утворенні специфічного імунного комплексу кут відбиття буде змінюватися, формуючи при цьому відповідний оптичний сигнал. Мікропроцесор, у свою чергу, реєструє цей сигнал, виводить отриману інформацію на екран і водночас передає отримані дані за допомогою GSM-зв'язку на сервер необхідної організації. Дані про знаходження місця вимірювань, отримані за допомогою GPS системи, передаються разом з інформацією про наявність інфекції.

Чутливість розробленого імунного біосенсора коливається в межах 10^3 – 10^7клітин/мл. Але такий рівень чутливості не завжди достатній для всіх практичних випадків. Можливо, для його покращення необхідно підібрати ефективніший метод іммобілізації специфічних антитіл, а саме, не виключено, що білок G може забезпечити необхідну щільність і орієнтацію селективних структур на поверхні трансдюсера. Чутливість аналізу може бути покращена і за рахунок оптимального алгоритму аналізу і/або використання специфічних структур із вищим рівнем афінності, і в цьому відношенні очікується результативним застосування моноклональних антитіл. Перелічені вище можливості підвищення чутливості імунного біосенсора на основі ППР при визначенні *S. Typhimurium,* як і відпрацювання базового алгоритму підготовки реальних проб для аналізу, становлять основні напрями наших подальших досліджень.

<u>Парасюк О.</u>, Мороз О., Звір Г.

СУЛЬФАТРЕДУКЦІЯ У *DESULFOVIBRIO DESULFURICANS* ЗА ВПЛИВУ СОЛЕЙ СВИНЦЮ ТА МІДІ

Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
moroz_oksana@yahoo.com

Сульфатвідновлювальні бактерії, які здійснюють дисиміляційне відновлення сульфатів, зв'язують потоки вуглецю і сірки в сульфатвмісних анаеробних біотопах, таких як забруднена сполуками сірки та важкими металами техногенна водойма Яворівського сіркового родовища. При застосуванні стійких до високих концентрацій важких металів штамів цих бактерій можна ефективно здійснювати очищення водного середовища від сірководню, сульфатів і важких металів. Вивчали вплив свинцю та міді на ріст, утворення сірководню і відновлення сульфатів сульфатвідновлювальними бактеріями, виділеними з озера "Яворівське".

Штами *Desulfovibrio desulfuricans K-45* і *Ya-11* вирощували у термостаті при температурі 30° С за анаеробних умов у пробірках, об'ємом 25 мл, чи колбах, об'ємом 500 мл, доверху заповнених середовищем Кравцова-Сорокіна. Для вивчення впливу іонів свинцю та міді на ріст сульфатвідновлювальних бактерій у пробірки, заповнені рідким середовищем, додавали стерильні розчини $Pb(NO_3)_2$ або/і $CuCl_2$ у концентраціях: 0 (контроль); 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1; 2; 3; 4; 5; 8 і 10 мМ, а також суспензію клітин (0,05 г/л). Після 14-15 діб визначали біомасу фо-

тоелектроколориметричним методом. Вивчали вплив солей важких металів: короткотерміновий (інкубація) і тривалий (вирощування в присутності солей металів), на утворення бактеріями сірководню та відновлення сульфатів. Для вивчення короткотермінового впливу металів на сульфатредукцію бактерії вирощували 7 діб у колбах. Клітини від культуральної рідини відокремлювали центрифугуванням впродовж 25 хв при 6000 об/хв, відмивали дистильованою водою, до отриманої суспензії клітин додавали розчини $Pb(NO_3)_2$ або/і $CuCl_2$ для отримання кінцевої концентрації 3 або 1 мМ та інкубували впродовж 1 год. Для вивчення тривалого впливу свинцю на сульфатредукцію клітини вирощували впродовж 7 діб у колбах зі середовищем, у яке додавали розчин $Pb(NO_3)_2$ для отримання кінцевої концентрації 3 мМ. Клітини від культуральної рідини відокремлювали центрифугуванням, відмивали, у пробірки вносили середовище і суспензію інкубованих або вирощених у присутності іонів металів та інтактних (контроль) клітин (0,05 г/л). Після певних проміжків часу визначали біомасу. У культуральній рідині, відокремленій від клітин центрифугуванням, вимірювали вміст сірководню йодометричним методом і сульфатів турбідиметричним.

Встановлено значний інгібуючий вплив Pb^{2+} на ріст і дисиміляційну сульфатредукцію *D. desulfuricans* у концентраціях, вищих 3 мМ. Клітини сульфатвідновлювальних бактерій, які підлягали більш тривалому впливу Pb^{2+} під час вирощування, виявилися менш здатними до продукування сірководню і відновлювали менші кількості внесених у середовище сульфатів, ніж клітини, які були інкубовані в присутності іона свинцю. Показано, що під впливом Cu^{2+} у концентраціях понад 3 мМ пригнічувався ріст, здатність утворювати сірководень та здійснювати відновлення сульфатів у сульфатвідновлювальних бактерій. Продемонстровано, що свинець за концентрації 1 мМ сильніше, ніж мідь, пригнічує ріст і процес дисиміляційної сульфатредукції у бактерій. Так, на 14-ти добу росту кількість сірководню, утвореного інкубованими свинцем клітинами *D. desulfuricans Ya-11* становила 1,3 мМ, міддю – 1,5 мМ, свинцем і міддю – 1,1 мМ (контроль: 2,4 мМ). Отже, доведено, що свинець є синергістом і посилює негативний вплив міді на метаболізм сполук сірки у *D. desulfuricans*. Проведені дослідження допоможуть глибше зрозуміти мікробні процеси, що перебігають у водоймах сірковидобувних районів, забруднених сірководнем, сульфатами і важкими металами, і в умовах порушеної природної рівноваги циклу сірки прогнозувати екологічну ситуацію.

Павлюк М., Дорош Л., Перетятко Т.

ПРО ЗДАТНІСТЬ СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ DESULFOVIBRIO DESULFURICANS YA-11 ВІДНОВЛЮВАТИ НІТРАТИ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
rom_lili@mail.ru

Досліджена здатність сульфатвідновлювальних бактерій *Desulfovibrio desulfuricans* Ya – 11 використовувати нітрати. Показано, що у середовищі Постгейта С з нітратами за відсутності сульфатів, бактерії нагромаджують біомасу у два рази меншу, ніж у середовищі з сульфатами, що свідчить про їхню здатність використовувати нітрати як акцептори електронів у процесі дисиміляційної нітратредукції. Нітрати виявилися менш ефективними акцепторами електронів, ніж сульфати.

При культивуванні бактерій у середовищі з нітратами виявлено утворення нітритів і амонію, що свідчить про наявність у досліджуваних бактерій ефективного процесу дисиміляційної нітратредукції, а ріст у середовищі з нітратами свідчить про здатність бактерій до асиміляційної нітратредукції.

Показано, що *Desulfovibrio desulfuricans* Ya – 11 здатні рости за наявності нітритів як джерела азоту і акцептора електронів. Причому ріст бактерій спостерігався в межах концентрацій нітриту 1-10 мМ.

Таким чином, проведені дослідження показують, що сульфатвідновлювальні бактерії за відповідних умов культивування можуть ефективно детоксикувати нітрати і нітрити.

Отримані результати можуть бути використані для розробки способів анаеробної детоксикації середовищ, забруднених нітратами і нітритами.

Рубель Х., Мороз О., Звір Г., Борсукевич Б.

ВПЛИВ СОЛЕЙ МІДІ, ЦИНКУ ТА КОБАЛЬТУ НА РІСТ ТА УТИЛІЗАЦІЮ СІРКОВОДНЮ *CHLOROBIUM LIMICOLA*

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
moroz_oksana@yahoo.com

Роль фототрофних сіркобактерій у процесах відновлення біоценозів і можливе використання їх для біоремедіації забруднених сірководнем і важкими металами водних ресурсів на території сіркових родовищ недостатньо вивчена. Метою досліджень було визначити інтенсивність росту й утилізацію сірководню клітинами бактерій *Chlorobium limicola*, виділених з водойми кар'єру Яворівського сіркового родовища, під впливом солей міді, цинку та кобальту.

Фотосинтезувальні зелені сіркобактерії культивували в анаеробних умовах при освітленні у пробірках, об'ємом 25 мл, у середовищі GSB впродовж 10 діб при 30° С. Для створення анаеробних умов пробірки повністю заповнювали середовищем і закривали гумовими корками. Зелені сіркобактерії освітлювали (з інтенсивністю 40 лк) променями з довжиною хвиль 700-800 нм. Для вивчення впливу іонів важких металів на ріст штаму *C. limicola Ya-2002* клітини вирощували до середини експоненційної фази росту, осаджували центрифугуванням при 5 тис. об/хв упродовж 40 хв та інкубували впродовж 1 години зі солями металів: $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7\ H_2O$, $CoCl_2$, у концентраціях: 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4 мМ. Клітини двічі відмивали дистильованою водою, осаджували центрифугуванням і висівали у пробірки (густина засіву – 0,15 г/л). Культивували впродовж 10 діб за анаеробних умов при освітленні, визначали біомасу на фотоелектроколориметрі КФК-3. Для вивчення впливу важких металів на ріст і утилізацію сірководню *C. limicola Ya-2002* клітини, інкубовані в присутності солей металів (0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4 мМ) впродовж 1 години, двічі відмивали, осаджували центрифугуванням, однакову кількість клітин (0,15 г/л) висівали в пробірки, вирощували за анаеробних умов при оптимальному освітленні. Після 3, 5 і 7 діб росту визначали біомасу та сірководень (титрометрично) у культуральній рідині.

Встановлено мінімальні концентрації солей міді, цинку та кобальту для штаму зелених фототрофних сіркобактерій *C. limicola Ya-2002,* за яких їх ріст виявився значно пригніченим: $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$ (4 мМ), $ZnSO4 \cdot 7\ H_2O$ (> 4 мМ), $CoCl_2$ (4 мМ). Виявлено, що іон міді до 3 мМ суттєво не впливає на ріст *C. limicola Ya-2002*. При концентрації 4 мМ солі міді під час інкубації спостерігається пригнічення росту бактерій. Утилізація сірководню штамом *C. limicola Ya-2002* пригнічується під впливом 1,5-4 мМ іона міді. Встановлено негативний вплив іона цинку на ріст *C. limicola Ya-2002* за концентрацій понад 4 мМ. Окиснення сірководню штамом *C. limicola Ya-2002* значно пригнічується під впливом 2-4 мМ іона цинку. Встановлено, що іон кобальту за концентрації 4 мМ негативно впливає на ріст *C. limicola Ya-2002*. Фотоасиміляція сірководню штамом *C. limicola Ya-2002* значно пригнічується іоном кобальту за концентрацій 1,5-4 мМ. Таким чином, встановлено, що іони міді, цинку та кобальту пригнічують як ріст, так і фотоасиміляцію сірководню фотосинтезувальними зеленими сіркобактеріями, причому більшою мірою процес аноксигенного фотосинтезу, ніж ріст.

Отримані у роботі результати дають можливість оцінити стан довкілля. Результати можуть бути використані для отримання стійких до іонів важких металів штамів сіркобактерій, які перспективні для застосування у біотехнологічних процесах очищення природного середовища від сірководню.

Рудик. Л., Горішний М., Гудзь С.

ВИКОРИСТАННЯ МОЛЕКУЛЯРНОЇ СІРКИ ЗЕЛЕНИМИ СІРКОВИМИ БАКТЕРІЯМИ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
gorishniy@ukr.net

Зелені сіркові бактерії - це група фотолітоавтотрофних мікроорганізмів, які не здатні до процесів окисного фосфорилювання. Основним шляхом отримання енергії цією групою мікрорганізмів є процеси фотофосфорилювання за умов анаеробного метаболізму.

Однак процеси отримання енергії зеленими сірковими бактеріями за екстремальних умов не з'ясовані.

Згідно з літературними даними основним джерелом енергії за умов темряви без донора електронів (гідроген сульфіду) є процеси субстратного фосфорилювання з використанням ендогенного поліцукриду (глікогену). Припускають, що у процесах субстратного фосфорилювання деякі види зелених сіркобактерій використовують молекулярну сірку.

Метою роботи було дослідити деякі закономірності метаболізму молекулярної сірки у клітинах зелених сіркобактерій.

У дослідах з відмитими клітинами зелених сіркових бактерії *Chlorobium limicola* Ya-2002, попередньо вирощеними у мінеральному середовищі GSB й інкубованих за відсутності донара електронів, на 40-ву годину клітини повністю вичерпували ендогенну глюкозу. Такі клітини після додавання у середовище молекулярної сірки перетворювали її до сульфатів.

Очевидно, ця реакція слугувала їм джерелом одержання енергії в екстремальних умовах.

Сайкевич І. , Русин І.

БІОДЕСТРУКЦІЯ ВУГЛЕВОДНІВ НАФТИ АЗОТФІКСУЮЧИМИ І ЦЕЛЮЛОЗОРУЙНУЮЧИМИ БАКТЕРІЯМИ ТА ДРІЖДЖАМИ

Національний університет «Львівська політехніка»
вул. С. Бандери, 12, м. Львів, 79013,Україна
rib@ gala. net

Розклад вуглеводнів нафти природною мікрофлорою грунту та водойм досить тривалий процес (Калюжний, 2001; Новоселова, 2004). У природних умовах в цьому процесі вирішальну роль відіграють вуглеводеньокиснюючі мікроорганізми. Для прискорення біологічної деструкції вуглеводнів у забруднене середовище вносять виділені з природних еконіш активні штами мікроорганізмів чи створені на їх основі препарати. Зі зменшенням концентрації вуглеводнів у грунті та воді активізується автохтонний мікробіоценоз, що приводить до повного відновлення рівноваги екосистем, яка існувала до забруднення (Коронеллі, 1997). Із наведених даних очевидною є актуальність пошуку нових активних штамів деструкторів вуглеводнів нафти та дослідження можливості використання вказаних мікроорганізмів для очищення довкілля від нафти і нафтопродуктів.

Об'єктом дослідження в даній роботі були виділені з нафтозабрудненого грунту азотфіксуючі та целюлозоруйнуючі бактерії та дріжджі. Було визначено концентрації нафти, які є оптимальними для росту даних мікроорганізмів.

Досліджено рівень мікробної деструкції вуглеводнів нафти в рідкому середовищі даними мікроорганізмами, де вуглеводні були єдиним джерелом вуглецю для них. Для дослідження була відібрана високопарафініста смолиста нафта зі Старосамбірської свердловини. Азотфіксуючі мікроорганізми вирощували у середовищі з 2% нафти, целюлозоруйнуючі та дріжджі – з 5% нафти. Для підвищення біодоступності даного гідрофобного вуглецевого субстрату для мікроорганізмів у середовище культивування вносили емульгатор Tween-40. Мікроорганізми вирощували при температурі 28°С протягом 14 днів. Кількість нафти, яка залишилась після культивування мікроорганізмів, визначали ваговим методом, попередньо екстрагуючи чотирихлористим вуглецем і пропускаючи через колонку з оксидом алюмінію.

Отримані результати показали, що рівень деструкції нафтопродуктів мікроорганізмами досить високий. У більшості випадків близько 2/3 доданої нафти була зруйнована мікроорганізмами. Так, рівень утилізації вуглеводнів нафти азотфіксуючим штамом N-28 за 14 діб становив 64,78%, целюлозоруйнуючим штамом С-13-4 67,69%, а дріжджами Y-1 – 70,56% .

Зважаючи на активний розклад штамами вуглеводнів у рідких середовищах, наступний етап роботи планується як дослідження рівня мікробної деструкції нафти у грунтах.

Сембрак Н., Андрієнко В., Перетятко Т.

ШЛЯХИ ДЕТОКСИКАЦІЇ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА ВІД ТОКСИЧНИХ СПОЛУК CR^{6+} ЗА УЧАСТЮ СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ

Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Грушевського 4, м. Львів 79005, Україна,
natalja-sembrak@rambler.ru

Однією з найважливіших екологічних проблем є забруднення довкілля сполуками важких металів, зокрема хромом. У природі найчастіше трапляються високотоксичні сполуки шестивалентного хрому і малорозчинні нетоксичні форми Cr (III). Сполуки шестивалентного хрому у підвищених концентраціях пригнічують ріст мікроорганізмів. Описані резистентні до хрому мікроорганізми, виділені зі стічних вод. Стійкі до хрому бактерії отримані також експериментально. Резистентність до хромату у мікроорганізмів пов'язують із пошкодженням системи транспорту сульфату та зниженням поглинання хрому. Одним із основних шляхів появи резистентних до хрому мікроорганізмів може бути відновлення Cr (IV) до Cr (III). Важливу роль у відновній детоксикації Cr (VI) можуть відігравати позаклітинні редукуючі речовини, що виділяються мікроорганізмами, наприклад, гідроген сульфід.

З водойм Язівського сіркового родовища виділені сульфатвідновлювальні бактерії, стійкі до Cr (IV) у концентрації 1 мМ. Збільшення вмісту Cr (VI) у середовищі до 5 мМ призводило до зниження рівня нагромадження ними біомаси приблизно у два рази, а за концентрації хрому 10 мМ ріст бактерій не спостерігався. Аналіз вмісту Cr (VI) у середовищах культивування показав, що його вміст у всіх випадках знижувався, що, очевидно, пов'язано з його відновленням гідроген сульфідом, що виділяється бактеріями у процесі дисиміляційної сульфатредукції.

Одним зі способів детоксикації важких металів зі змінною валентністю (наприклад хрому) у мікроорганізмів є їхнє використання в якості акцепторів електронів. Унаслідок відновлення найбільш токсичний шестивалентний хром може перетворюватися мікроорганізмами до малотоксичного Cr (III). Встановлено, що за наявності Cr (VI) у середовищі ріст бактерій суттєво не відрізняється від росту у середовищі зі сульфатом як акцептором електронів. За концентрації Cr (VI) 0,1–1 мМ біомаса бактерій на 7–9 доби культивування становила 2,5–3,5 г/л. На цей час культура переходила у стаціонарну фазу росту, і цей перехід визначався концентрацією Cr (VI) у середовищі. У випадку підвищених концентрацій Cr (VI) (5 мМ) в цей період культура лише дещо сповільнювала ріст, а в середовищі виявлялася ще висока концентрація хрому (2,65 мМ). Очевидно, сповільнення росту бактерій було обумовлено вичерпанням органічних сполук з середовища.

Таким чином, існування двох шляхів детоксикації Cr (VI) сульфатвідновлювальними бактеріями роблять їх перспективними для використання у біоремедіації навколишнього середовища від сполук шестивалентного хрому.

Скиба І., Мороз О., Клим І., Борсукевич Б.

УТВОРЕННЯ СІРКОВОДНЮ СІРКОВІДНОВЛЮВАЛЬНИМИ БАКТЕРІЯМИ ВОДОЙМИ КАР'ЄРУ ЯВОРІВСЬКОГО СІРКОВОГО РОДОВИЩА

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
moroz_oksana@yahoo.com

Основна роль в утворенні сірководню у природі належить сульфат- і сірковідновлювальним бактеріям. У збагачених сполуками сірки штучних водоймах, які виникли на місці недіючих сірковидобувних підприємств, за їх участю активно відбуваються процеси відновлення окиснених сполук сірки з утворенням токсичного для живих організмів сірководню. Метою роботи було вивчити біогенез сірководню сірковідновлювальними бактеріями, виділеними з води і мулу водойми кар'єру Яворівського сіркового родовища.

Вивчали кінетику утворення сірководню десятьма культурами *Yavor-1-Yavor-10* і штамом *Desulfuromonas acetoxidans*, використаним як контроль. Клітини культивували у середовищі Постгейта С, яке замість сульфатів містило сірку, впродовж 10 діб за анаеробних умов при 30^0 С. Густина засіву становила 0,05 г/л. Після 2, 5, 10 доби визначали біомасу фотоелектроколориметричним та концентрацію сірководню спектрофотометричним методом. Встановлено, що всі культури сірковідновлювальних бактерій є активними продуцентами сірководню. За 10 діб росту у середовищі Постгейта С без сульфатів клітини культур утворювали до 1,0 мМ сірководню (*D. acetoxidans* 0,7 мМ).

Обмеженням у застосуванні як сульфат-, так і сірковідновлювальних бактерій у біотехнологічних процесах, спрямованих на очищення водного довкілля від сірководню, сульфатів та важких металів, є їх чутливість до гідроген сульфіду. Вивчали чутливість сірковідновлювальних бактерій до сірководню. До пробірок зі середовищем Постгейта С зі сіркою вносили різну кількість $Na_2S \times 9\ H_2O$ для отримання кінцевих концентрацій сірководню: 0 (контроль); 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 12; 15; 17; 19; 22; 25; 27; 28; 30 мМ. Густина засіву - 0,2 г/л. Після 10 діб росту визначали біомасу. Встановлено, що бактерії є високостійкими до сірководню, оскільки ріст бактерій виявився значно пригніченим лише при 6 мМ гідроген сульфіду у середовищі. Вони є перспективними для біотехнологічного використання.

Скочиляс Н., Колісник Я.

ЧУТЛИВІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ ДО СОРБІНОВОЇ ТА ЛИМОННОЇ КИСЛОТ, ЩО ВХОДЯТЬ ДО СКЛАДУ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ “УРОЛЕСАН”

Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005,
nskochelyas@mail.ru

Лікарські засоби, до складу яких входять натуральні екстракти, є хорошими поживними середовищами для розвитку мікроорганізмів. З метою запобігання їх розмноження у процесі зберігання і застосування фармацевтичних препаратів, особливо у випадку багатодозових контейнерів, виникає необхідність вводити до їхнього складу певні хімічні речовини – консерванти.

До складу лікарського засобу “Уролесан” входить сорбінова кислота (2,4-гександієнова кислота) та лимонна кислота, яка, очевидно, підсилює дію консерванта. Сорбінова кислота пригнічує ріст вегетативних клітин бактерій і грибів та інгібує проростання бактеріальних спор. Її негативний вплив на клітини мікроорганізмів пов’язаний із руйнуванням структури мембран, генерацією активованих форм кисню, пошкодженнями мітохондріальної ДНК.

Метою нашої роботи було вивчити вплив на мікроорганізми сорбінової та лимонної кислот у концентраціях 1,2 мг/мл та 0,8 мг/мл, відповідно, у яких вони входять до складу “Уролесану”. Дослідження проводили мікробіологічним методом, описаним в ДФУ 5.1.3, на тест-штамах мікроорганізмів: *Candida albicans ATCC 885-653, Zygosaccharomyces rouxii NCYC 381, Aspergillus niger ATCC 16404, Staphylococcus aureus ATCC 6538, Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027, Escherichia coli ATCC 8739.* Критерієм оцінки консервуючої дії було зниження числа життєздатних клітин мікроорганізмів у препараті за певний період часу після його контамінації.

Достовірність результатів дослідження ефективності консервуючої дії залежить від методики, яка використовується для визначення числа життєздатних клітин бактерій і грибів у контамінованих зразках. У разі наявності антимікробної дії препарату методика повинна дозволяти ефективно її нейтралізувати. За результатами досліджень, що були отримані методом прямого глибинного посіву препарату, описаного в ДФУ 2.6.12, у розведенні 1:10 у фосфатному буферному розчині з натрієм хлоридом і пептоном (pH 7,0), методику визначення числа життєздатних мікроорганізмів у лікарському засобі “Уролесан” вважали придатною для проведення визначення ефективності антимікробних консервантів, оскільки кількість мікроорганізмів у дослідженнях з лікарським засобом та контролі була однакова (у межах допустимої похибки мікробіологічних досліджень (± 15 %)).

Експериментально показано комплексну антимікробну дію сорбінової та лимонної кислот, визначено спектр їхньою активності щодо досліджуваних мікроорганізмів. Сорбінова та лимонна кислоти у вказаних концентраціях в умовах високого мікробного навантаження 10^5-10^6 КУО/мл проявляли згубну дію на деякі грампозитивні та грамнегативні бактерії, а також дріжджоподібні та цвільові гриби. Так, життєздатні клітини *P. aeruginosa, C. albicans* не виявлялися через дві доби при послідовних висівах. Логарифм числа КУО/мл *Z. rouxii* через 2 доби становив 4,25 порівняно з вихідним значенням 5,36, *S. aureus* – 1,27 порівняно з вихідним значенням 6,11, *E. coli* – 1,07 порівняно з вихідним значенням 6,69. При подальших послідовних висівах життєздатні клітини цих тест-мікроорганізмів не виявлялися. Логарифм зниження числа життєздатних клітин *A. niger* через 2 доби становив 1,4, через 7 діб – 3,75, при подальших послідовних посівах життєздатні клітини цього тест-мікроорганізму не виявляли (lg числа КУО/мл вихідної концентрації 5,86).

Отже, найбільшу чутливість до досліджуваних сполук було виявлено у *P. aeruginosa* та *C. albicans.* Ефективність антимікробних речовин була високою також щодо *Z. rouxii, S. aureus, E. coli.* Найменш виражена активність сорбінової та лимонної кислот спостерігалася щодо *A. niger.*

Сосновська О.

ОТРИМАННЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ХРОМАТОРЕЗИСТЕНТНИХ МУТАНТІВ ДРІЖДЖІВ *PICHIA GUILLIERMONDII*

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
sosnovscka.olga@yandex.ua

Хром є необхідним для забезпечення життєдіяльності організму у зв'язку з важливими функціями, які він виконує в клітині (участь в обміні вуглеводів, ліпідів, стабілізації білків). Нестача цього елемента спричиняє ряд порушень у метаболічних процесах. Однак високі концентрації хрому є надзвичайно токсичними, мутагенними та канцерогенними, особливо в окисненій формі, Cr(VI). Цей метал включений у ряд промислових виробництв і тому спричиняє низку серйозних екологічних проблем. Мікроорганізми, зокрема дріжджі, можуть бути використані для біоремедіації та детекції сполук хрому в навколишньому середовищі. Метою нашої роботи було отримати мутанти дріжджів *Pichia guilliermondii* зі зниженою чутливістю до хромату та дослідити їхні властивості.

Мутанти, резистентні до хромату, отримували методом інсерційного мутагенезу. Як вектор використовували лінеаризовану за сайтом EcoR1 плазміду pAGU34, яка містить ген *URA3 Saccharomyces cerevisiae* як селективний маркер. Як реципієнтний використовували уридинозалежний штам *P. guilliermondii* R66, селективне середовище містило 2-3 мМ Cr(VI). Отримано 56 мутантів, здатних до росту на середовищі такого складу. Для визначення чутливості отриманих штамів до різних концентрацій хромату використовували агаризоване середовище Беркгольдера, що містило Cr(VI) в концентрації від 0,5 до 4 мМ. Селекціоновані мутанти виявилися менш чутливими до дії хромату, ніж реципієнтний штам, ріст спостерігався при концентрації хромату 2,5 – 3,5мМ. Ріст вихідного штаму R66 повністю пригнічувався при концентрації хромату 2мМ. Виявилось, що мутанти є більш чутливими до токсичної дії Cr(VI) у рідкому середовищі порівняно з агаризованим.

Наявність плазміди pAGU34 у геномі хроматорезистентних штамів перевіряли за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. Жоден з отриманих мутантів не містив гена *URA3.* Це означає, що інтеграція в плазміди pAGU34 в геном не відбулася і не є причиною резистентності мутантів до хромату. Знижену чутливість отриманих мутантів до Cr(VI) можна пояснити мутагенною дією хромату або Li-ацетату.

Хроматорезистентні мутанти володіли різною здатністю до внутрішньоклітинної акумуляції хрому. Клітини мутантів № 8, 17, 33 і 63 після 43 годин вирощування з 1мМ Cr(VI) акумулювали у 2–3 рази більше хрому, ніж батьківський штам. Лише один з проаналізованих мутантів (№31) за вмістом хрому в клітинах не відрізнявся від реципієнтного штаму *P. guiller-*

mondii R66. Після інкубації 1 мг/мл клітин протягом 24 годин у середовищі з додаванням 6мМ Cr(VI) мутанти акумулювали в клітинах у 1,5–2 рази більше хрому, ніж вихідний штам.

Причиною резистентності до хромату може бути позаклітинне відновлення токсичного Cr(VI) до менш токсичного Cr(III). Проаналізовано зміни вмісту Cr(VI) у культуральній рідині 11 селекціонованих мутантів та батьківського штаму R66 при рості в середовищі, що містило 1 мМ хромату. Досліджувані мутанти становлять гетерогенну групу за здатністю до відновлення Cr(VI). Вихідний штам володів слабкою хроматоредуктазною активністю – на 12 годину інкубації відновлював лише 18% хромату. Найвищою хроматоредуктазною активністю характеризувався мутант № 63, який на 12 год інкубації відновлював 50% хромату. Значно слабшою здатністю до відновлення хромату характеризувався мутант № 31, який протягом 12 годин інкубації з Cr(VI) відновлював 25% хромату. Очевидно, висока позаклітинна хроматоредукуюча здатність цих штамів є причиною резистентності до Cr(VI).

Визначення стабільності за ознакою «резистентність до хромату» показало, що лише 35% селекціонованих мутантів зберегли здатність до росту при концентрації хромату 2мМ через 7 місяців після отримання.

Сторія Х., Дуфанець О., Звір Г., Мороз О.

ДИСИМІЛЯЦІЙНА СУЛЬФАТРЕДУКЦІЯ У *DESULFOVIBRIO DESULFURICANS* ЗА ВПЛИВУ ВИСОКИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ СОЛЕЙ ЦИНКУ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського 4, м. Львів 79005, Україна
moroz_oksana@yahoo.com

Забруднення навколишнього середовища важкими металами є однією з найважливіших проблем сьогодення. Надходження їх у навколишнє середовище відбувається у результаті як природних процесів, так і антропогенних викидів. Потрапляючи шляхом осадження з атмосфери у грунти та водойми, важкі метали інгібують процеси мінералізації та синтез різних речовин у грунтах, пригнічують дихання грунтових мікроорганізмів, можуть виступати як мутагенний фактор.

Метали, що потрапили у довкілля, можуть в окисненій формі взаємодіяти з мікробною клітиною. У низьких концентраціях вони потрібні для нормальної життєдіяльності мікроорганізмів, у високих – призводять до пригнічення їх біохімічної діяльності, блокування метаболічних процесів у клітині, наприклад, інгібування активності деяких ферментів. Малодослідженим залишається питання впливу важких металів, зокрема цинку, на сульфатвідновлювальні бактерії.

Тому метою роботи було дослідження впливу високих концентрацій іонів цинку на процес дисиміляційної сульфатредукції сульфатвідновлювальних бактерій *D. desulfuricans* Ya-11, виділених із водойми кар'єру Яворівського сіркового родовища. Бактерії вирощували за анаеробних умов у середовищі Кравцова-Сорокіна протягом 12 діб за впливу високих концентрацій іонів цинку (2,0-16,0 мМ).

Внесення у середовище культивування *D. desulfuricans* іонів цинку у концентрації 4,0-16,0 мМ спричиняло пригнічення росту культури порівняно з контролем у 1,2-2,6 разу, що, можливо, є наслідком впливу цього металу на метаболізм бактерійних клітин.

Дослідження кінетики утворення сірководню та відновлення сульфатів клітинами сульфатвідновлювальних бактерій показало негативний вплив іонів цинку на процес дисиміляційної сульфатредукції.

У середовищі Кравцова-Сорокіна, яке не містило іонів цинку, було відмічено найінтенсивніше нагромадження сірководню з максимумом (18,30±0,02 г/л) на шосту добу культивування. Внесення іонів цинку у концентрації 2,0-16,0 мМ призводило до зменшення утворення сірководню з найвищою концентрацією (16,30±0,03 та 7,50±0,01 г/л відповідно) на восьму добу культивування.

Встановлено негативний вплив солей цинку на відновлення сульфатів сульфатвідновлювальними бактеріями *D. desulfuricans* Ya–11. Культивовані у присутності Zn^{2+} бактерії відновлювали значно менше внесених у середовище сульфатів порівняно з контролем. Зростання

вмісту іонів цинку у середовищі культивування *D. desulfuricans* Ya–11 до 8,0-16,0 мМ зумовлювало нагромадження найвищої кількості сульфатів.

Теличка О., Горішний М., Гудзь С.

НАГРОМАДЖЕННЯ МОЛЕКУЛЯРНОЇ СІРКИ ТА СУЛЬФАТІВ ЗЕЛЕНИМИ СІРКОВИМИ БАКТЕРІЯМИ У ПРОЦЕСІ АНОКСИГЕННОГО ФОТОСИНТЕЗУ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського 4, м. Львів 79005, Україна
gorishniy@ukr.net

Зелені сіркові бактерії *Chlorobium limicola* Ya-2002 використовують гідроген сульфід як донор електронів у процесі аноксигенного фотосинтезу. Окиснення гідроген сульфіду призводить до нагромадження екзогенної молекулярної сірки, яка за відсутності донора електронів може окиснюватись до сульфатів. Слід зазначити, що нагромадження сполук сірки з різним ступенем окиснення для зелених сіркобактерій є видоспецифічним.

Метою нашої роботи було дослідити деякі закономірності нагромадження сполук сірки з різним ступенем окиснення - зеленими сіркобактеріями у процесі аноксигенного фотосинтезу.

Для виявлення екзогенної молекулярної сірки клітини *C. limicola* Ya-2002 вирощували за умов освітленості та наявності донора електронів – натрій сульфіду.. Показано, що молекулярна сірка нагромаджується впродовж усього періоду росту культури. Найбільш інтенсивне її утворення (100-120 мг/л) спостерігається в експоненціальній фазі росту**.**

Після використання сульфіду утворена сірка нульової валентності окиснюється до сульфату. Досліджено нагромадження сульфатів у культуральній рідині та встановлено, що їх утворення починається на шосту добу культивування клітин *C. limicola* Ya-2002 у мінеральному середовищі GSB з $NaHCO_3$ та Na_2S. Збільшення концентрації сульфатів спостерігається у стаціонарній фазі росту. На чотирнадцяту добу концентрація сульфатів становила 13,3 мМ/л.

У мінеральному середовищі GSB з додатковим внесенням пірувату й ацетату спостерігалося більш інтенсивне нагромадження сульфатів.

Досліджено процеси нагромадження сульфатів зеленими сіркобактеріями за умов темряви та при освітленні. У дослідах з відмитими клітинами *C. limicola* Ya-2002 показано, що на двадцяту годину концентрація сульфатів є максимальною як при освітленні, так і в темряві. Очевидно, сірка лише використовується у процесах субстратного фосфорилювання. У подальшому спостерігалося значне зниження концентрації сульфатів.

Таким чином зелені сіркові бактерії *C. limicola* Ya-2002 у процесі аноксигенного фотосинтезу окиснюють гідроген сульфід до молекулярної сірки, яка за відсутності донора електронів у середовищі (гідроген сульфіду) окиснюється до сульфатів.

Тищук Н., Сенчугова Н., Постоєнко О.

ВПЛИВ АБІОТИЧНИХ І БІОТИЧНИХ ЧИННИКІВ НА СТАН АГРОЦЕНОЗІВ ЦУКРОВОГО БУРЯКУ НА МЕЖІ ЖИТОМИРСЬКОЇ І ВІННИЦЬКОЇ ОБЛАСТЕЙ

[1]Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01033

Оскільки шляхи автотранспортного сполучення будь-якого навантаження є одним із джерел потрапляння ксенобіотиків в екосистеми, ми розглядали їх як один із елементів абіотичного впливу на агроценози цукрового буряку. За біотичний чинник впливу на останній ми обрали рослини бур'яни. Як абіотичні, так і біотичні фактори в кінцевому рахунку можуть впливати на біологічні властивості як збудника, так і рослини господаря.

Зразки відбирали з агроценозів цукрового буряку на межі Вінницької та Житомирської областей. Стан рослин діагностували за зовнішніми ознаками або симптомами ураження, які в подальшому були відповідно згруповані. Серологічну діагностику вірусних захворювань проводили методом імуноферментного аналізу в непрямому варіанті за загальноприйнятою методикою.

Аналіз даних по впливу абіотичного фактора показав, що рослини, які ростуть поряд з автомагістралями і, ймовірно, отримують більше техногенне навантаження, характеризуються більшим відсотком уражених рослин порівняно з такими, які ростуть у місцях, віддалених від шляхів сполучення. Більш того, на наш погляд, ширина і склад лісосмуги, яка відділяє трасу Житомир - Вінниця від промислових насаджень, суттєво зменшує техногенне навантаження і, як наслідок, сприяє більшій стійкості рослин до вірусної інфекції. Поява нових симптомів для наших агроценозів–скручування верхівок листкової пластинки та лійкоподібне скручування листків може–свідчити про наявність у рослинах недетектованих патогенів або про вплив фактора, який раніше не враховувався при дослідженні агроценозів цукрового буряку. Це цілком можливо, адже пожвавлення торгівельних і економічних відносин з більшістю європейських країн, а саме імпортування насіннєвого матеріалу, ймовірно може виявитися джерелом нових для України вірусів.

Аналіз флористичного складу бур'янів показав присутність двох характерних для бурякових полів рослин, які раніше нами не реєструвалися у цих агроценозах, а саме - кучерявець Софії та щавель кучерявий. Це може свідчити про можливість зміни флористичного складу агроценозу, що, у свою чергу, може викликати і появу в подальшому нових вірусів, оскільки більшість бур'янів є також господарями для більшості вірусів цукрового буряку.

Таким чином, ми зробили висновок про кореляцію фітовірусологічного стану агроценозів цукрового буряку з їх розташуванням щодо шляхів автотранспортного сполучення різного навантаження. Аналіз змін флористичного складу рослин-бур'янів дав нам змогу припустити, що поява нових вірусів в агроценозах цукрового буряку може бути пов'язана з рослинами-бур'янами та використанням імпортованого насіннєвого матеріалу.

Удовиченко К., Тряпіцина Н.

ОПТИМІЗОВАНА СИСТЕМА КОНТРОЛЮ ЗВОРОТНОЇ ТРАНСКРИПЦІЇ РОСЛИННОЇ РНК

Інститут садівництва НААН України
вул. Садова, 6, м.Київ, 03027, Україна
k_udovychenko@rambler.ru

Екстракція РНК високої якості з рослинних тканин є ключовим етапом для успішного проведення зворотної транскрипції при діагностиці РНК-вмісних вірусів. Незважаючи на значну кількість розроблених методик, виділення тотальної РНК належної якості з рослин видів *Rosaceae* залишається проблемою. Яблуня та, особливо, груша характеризуються значним вмістом фенольних сполук і полісахаридів, які у процесі екстракції зв'язуються з РНК і роблять її непридатною для синтезу кДНК. Тому існує велика ймовірність отримання хибнонегативних результатів при детекції вірусів.

Для забезпечення надійності аналізу необхідно використовувати внутрішній контроль. Кілька варіантів праймерів внутрішнього контролю до рослинних послідовностей нуклеїнових кислот, розроблених різними авторами, не визначають різниці між РНК та ДНК. Тому для нашої роботи було обрано пару праймерів до ділянки мітохондріальної ДНК, що кодує ген *nad5*. Даний ген містить екзони a та b, розділені інтроном довжиною 877 пн. Оскільки 3'-кінець смислового праймера гомологічний до екзона b, а 5' – до екзона a, то ампліфікація можлива лише після проходження сплайсингу мРНК гена *nad5*. Таким чином, можна чітко пересвідчитися, що РНК виділено успішно, а сполуки, що можуть інгібувати зворотну транскрипцію кожного окремого зразка, відсутні.

Метою нашої роботи був підбір оптимальних умов екстракції тотальної РНК зі зразків яблуні та груші, придатної для подальшого аналізу на наявність вірусної інфекції, і забезпечення контролю зворотної транскрипції рослинної РНК. Для досліджень було відібрано зразки яблуні та груші різних сортів. Виділення РНК проводили за допомогою комерційних наборів, а також за стандартними та модифікованими методиками. Основну увагу приділяли оптимізації використання речовин, що зв'язують фенольні та полісахаридні компоненти, зокрема: PVP,

SDS, PEG, TWEEN-20, меркаптоетанолу, лаурил саркозину. Також застосовували попереднє заморожування та обробку зразків розчинами неорганічних кислот різної концентрації.

Результати досліджень дозволили оцінити придатність п'яти апробованих методик для роботи зі зразками яблуні та груші. Незважаючи на спорідненість родів *Malus* та *Pyrus*, значну різницю спостерігали у якості отриманої РНК, що виявлялося при подальшому проведенні ЗТ-ПЛР з парою праймерів *nad5-s* та *nad5-as*. За нашими спостереженнями, всі апробовані методики дають позитивні результати при роботі з яблунею. Не вдалося досягти стабільного відтворення результатів для зразків груші, ні методом однокрокової, ні методом двокрокової зт-ПЛР.

Це може бути пов'язано із залишковою присутністю фенолів і полісахаридів у препаратах РНК цієї культури, що інгібують активність ферментів. Таким чином, процес виділення РНК із груші потребує подальшої оптимізації з використанням додаткових етапів очищення від інгібуючих зворотну транскрипцію сполук.

Чайка О., Перетятко Т., Гудзь С.

СІРКОВІДНОВЛЮВАЛЬНІ БАКТЕРІЇ ВОДОЙМ ЯЗІВСЬКОГО СІРКОВОГО РОДОВИЩА

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського 4, м. Львів 79005, Україна
lolena@i.ua

Бактерії, які здатні відновлювати елементну сірку до гідроген сульфіду, відіграють важливу роль у кругообігу сірки в природі, особливо в сірковидобувних регіонах, де процеси кругообігу сірки порушуються. Протягом останніх років велика увага приділяється дослідженню моніторингу і розповсюдженню сульфатвідновлювальних бактерій на території Язівського сіркового родовища, в той час як поширення і активність сірковідновлювальних бактерій на території сіркового кар'єру практично не досліджена. Тому із води та мулу кар'єрного озера Яворівське, що лежить на території Язівського сіркового родовища, відібрали проби і провели мікробіологічний аналіз на загальну кількість бактерій і на наявність серед них сірковідновлювальних бактерій. Одержані результати показують, що у воді та мулі водойм, що утворилися на місці сірковидобувних кар'єрів, міститься доволі велика кількість сірковідновлювальних бактерій (16%, 20% від загальної кількості бактерій), життєдіяльність яких забезпечує процес відновлення сірки, що супроводжується нагромадженням гідроген сульфіду.

Наявність сірковідновлювальних бактерій у воді та мулі озера виявляли шляхом висіву проб на модифіковане агаризоване середовище Постгейта В без сульфатів. Донором електронів у ньому був лактат, а акцептором – елементна сірка. Після 14 діб культивування відібрали більше 100 колоній, що мали чорне забарвлення, яке обумовлене наявністю в клітинах FeS, що утворився в результаті взаємодії заліза і гідроген сульфіду, виділюваного бактеріями внаслідок дисиміляційного відновлення S^0. Дослідження морфо-фізіологічних властивостей виділених культур показало, що вони мають паличкоподібну форму, рухомі, оптимальний ріст спостерігається за температури 25-35^{0}C, pH 6,5-7,5, розміри клітин становлять 0,5-0,7 х 1,8-2,0 мкм. У подальших експериментах використовували одну типову культуру, що добре росла на селективному середовищі та колонії якої мали інтенсивне чорне забарвлення.

Встановлено, що виділені бактерії як джерело вуглецю використовують етанол, ацетат, пропіонат, сукцинат фумарат, бутанол і не ростуть у середовищі з глюкозою, фруктозою, сахарозою та пальмітатом. Для росту вони потребують біотину. У середовищі зі сульфатом і тіосульфатом виділена культура бактерій не росте, а у середовищі з лактатом і елементною сіркою не нагромаджує ацетату, що вказує на те, що вона окиснює органічні субстрати повністю до CO_2. Встановлено, що виділені бактерії ростуть у середовищі з фумаратом за відсутності елементної сірки .

Порівняння отриманих даних із даними визначника бактерій Берджі та інших джерел літератури, а саме, здатності відновлювати елементну сірку і не відновлювати сульфати, повністю окиснювати органічні субстрати до CO_2, ріст у середовищі з фумаратом за відсутності елементної сірки, оптимальний діапазон температури для росту 20 – 35 ^{0}C, дає підстави ідентифікувати виділені бактерії як *Desulfuromonas* sp.

Чорна Д., Яворська Г.

ПОРІВНЯННЯ МІКРОФЛОРИ УРБОЗЕМІВ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗОН М. ЛЬВОВА

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

У процесі урбанізації формується природно-міська система, що складається з фрагментів природних екосистем, промислових зон, транспортних магістралей та ін. Вона характеризується створенням нових типів штучних систем у результаті деградації, знищення або заміщення природного середовища [Кучерявый В. А., 1991]. Але, як частина біосфери, вона має ті самі компоненти, включаючи ґрунти. Особливості складу мікрофлори в ґрунтах міст досі вивчалися лише з точки зору наявності в них санітарно-показових мікроорганізмів. Ґрунтові мікроорганізми становлять значну частину будь-якої біогеосистеми. Вони мають високу чутливість до антропогенного впливу, і в умовах міста їхній склад змінюється. Тому вони є гарними індикаторами забруднення навколишнього середовища. Дослідження асоціацій мікроорганізмів урбоземів є актуальним питанням, оскільки при правильному трактуванні такі результати можуть бути ознакою змін в екосистемі міст.

Метою роботи було проаналізувати і порівняти мікробіологічні та фізико-хімічні показники у ґрунтах функціональних зон міста Львова.

Для оцінки стану ґрунтів-урбоземів та їхньої мікрофлори були вибрані дослідницькі точки з контролем у Брюховицькому лісі. Це місця у промисловій, селітебній, транспортній та рекреаційній зонах міста.

Визначали ряд фізико–хімічних показників міських ґрунтів, таких як: вологість, pH, загальна кількість карбону, вміст деяких важких металів (Cu, Zn,Co, Pb, Cd). Визначення вологості проводили за різницею мас. Аналізи з визначення pH та загальної кількості карбону у ґрунті здійснила грунтово-агрохімічна лабораторія Миколаївського державного аграрного університету. Визначення pH водної витяжки проводили за стандартним методом. Визначення загальної кількості органічної речовини проводили за методом Тюріна в модифікації. Вміст рухомих форм важких металів (Cu, Zn, Co, Pb, Cd) у ґрунті визначали у проектно-технологічному центрі родючості ґрунтів та якості продукції методом виділення ацетатно-амонійним буферним розчином pH 4,8. Для визначення чисельності використовували методи загального підрахунку мікроорганізмів.

Показано, що природний ґрунтовий покрив на більшій частині території Львова зруйнований. Він зберігся лише невеликими острівками у міських парках, скверах та лісопарках. Грунт характеризується низькими значеннями вмісту карбону (1–3%) та високими pH (7–8), на відміну від природних ґрунтів для яких характерним є високі значення вмісту органічної речовини (4–6%) і кислі значення pH (4,5–6,5). Отримані дані за середньою кількістю мікроорганізмів фізіологічних груп вказують на домінування сапрофітної групи (29%) у ґрунтах м. Львова, а також широку розповсюдженість олігонітрофілів та мікроміцетів (21 та 20% відповідно). У меншій кількості спостерігали групи амілолітичних і целюлозоруйнуючих мікроорганізмів. Таке домінування сапрофітів позитивно корелює з вмістом органічної речовини, олігонітрофіли вказують на збідненість урбоземів сполуки нітрогену. За санітарно-мікробіологічними показниками ґрунти м. Львова можна вважати забрудненими і небезпечними, оскільки індекс БГКП значно перевищує встановлені норми майже в усіх досліджених ділянках, а найбільше у транспортній зоні міста (АЗС та головний вокзал) і рекреаційній зоні Стрийського парку, що не може не викликати занепокоєння.

Вперше проведено порівняльну характеристику чисельності основних фізіологічних груп мікроорганізмів грунтів м. Львова, досліджено фізико-хімічні показники урбоземів та основні санітарно-мікробіологічні показники. Отримані результати свідчать, що урбоземи м. Львова не можуть виконувати своїх екологічних функцій повною мірою, оскільки відзначено порушення стабільності та високий ступінь забрудненості важкими металами майже всіх досліджених точок, а визначені загальна чисельність і санітарно-мікробіологічні показники вказують на порушення природного складу і високий рівень забруднення, що може становити небезпеку для населення міста.

Фещук А., Загородна І., Мороз О., Яворська Г.

ВИКОРИСТАННЯ ОРГАНІЧНИХ СПОЛУК СІРКОВІДНОВЛЮВАЛЬНИМИ БАКТЕРІЯМИ ВОДОЙМИ КАР'ЄРУ ЯВОРІВСЬКОГО СІРКОВОГО РОДОВИЩА

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
moroz_oksana@yahoo.com

Поряд зі сульфатвідновлювальними бактеріями, активними продуцентами сірководню у техногенних водоймах сірковидобувних районів, збагачених сіркою і її сполуками, є сірковідновлювальні бактерії. Вони - хемоорганотрофи, використовують ацетат і інші прості органічні сполуки як джерела вуглецю і донори електронів, які повністю окиснюють до CO_2 у циклі трикарбонових кислот. З глибинної зони водойми кар'єру Яворівського сіркового родовища виділено бактерії *Desulfuromonas acetoxidans* та десять чистих культур сірковідновлювальних бактерій. Вивчали одну із їхніх основних фізіологічних особливостей – здатність рости з використанням різних органічних сполук як джерел вуглецю та донорів електронів для дисиміляційної сіркоредукції: лактату, етанолу, бутанолу, пірувату, L-малату, ацетату, сукцинату, фумарату. Проведені дослідження важливі як для ідентифікації виділених культур, так і для більш глибокого розуміння процесів, що відбуваються у водоймі, і прогнозування екологічної ситуації в умовах порушеної природної рівноваги циклу сірки.

Бактерії культивували у пробірках за анаеробних умов при 30^0С впродовж десяти діб у середовищі Постгейта С, у яке замість сульфатів додавали елементну сірку, а замість лактату натрію–органічні сполуки в еквімолярній до нього концентрації (51 мМ). Густина засіву становила 0,05 г/л. Біомасу визначали фотоелектроколориметричним, а вміст сірководню – спектрофотометричним методом.

Встановлено, що лактат, етанол, бутанол, піруват, L-малат, фумарат, сукцинат і ацетат можуть використовуватися культурами сірковідновлювальних бактерій *Yavor-1 – Yavor-10* як джерела вуглецю і донори електронів дисиміляційної сіркоредукції. Всі культури виявилися здатними ферментувати фумарат у середовищі без сірки. Найкращий ріст виявлено при утилізації бактеріями лактату (нагромадження біомаси до 1,5 г/л), пірувату (до 1,3 г/л) і ацетату (до1,2 г/л).

Вивчали кінетику утворення сірководню *D. acetoxidans* та культурами *Yavor-5* і *Yavor-7*, які виявили найкращий ріст у середовищі зі всіма перевіреними органічними сполуками, при використанні лактату, пірувату і ацетату. Порівняно з культурою *Yavor-5*, культура *Yavor-7* виявилася більш активним продуцентом сірководню. За десять діб росту у середовищі з піруватом і ацетатом клітини культури *Yavor-7* продукували 0,7 і 0,5 мМ сірководню, *D. acetoxidans* – 0,7 і 0,6 мМ, відповідно. Найбільше сірководню (0,9 мМ) утворювали клітини *D. acetoxidans,* вирощені у середовищі з лактатом натрію. Отже, сірковідновлювальниі бактерії *Yavor-5* і *Yavor-7,* як і *D. acetoxidans*, здатні активно здійснювати процес дисиміляційної сіркоредукції не лише при використанні лактату як донора електронів, але і пірувату й ацетату, хоча і з дещо нижчою ефективністю.

Юринець Х., Мороз О., Клим І., Борсукевич Б.

МОРФОЛОГІЯ ТА ДЕЯКІ ФІЗІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СІРКОВІДНОВЛЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ ВОДОЙМИ КАР'ЄРУ ЯВОРІВСЬКОГО СІРКОВОГО РОДОВИЩА

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
moroz_oksana@yahoo.com

Сірковідновлювальні бактерії поширені у природі в місцях з низьким окисно-відновним потенціалом: придонних осадах, глибинній анаеробній зоні водойм. Особливо важливу роль вони відіграють у місцях розробки сіркових родовищ, де за їх участю активно відбувається відновлення сірки з утворенням сірководню, токсичного для довкілля. Метою роботи було виділити чисті культури сірковідновлювальних бактерій з води і мулу водойми кар'єру Яворівського сіркового родовища, ідентифікувати їхньою на основі вивчення морфо-фізіологічних особливостей.

Зразки води відбирали з глибини 30-40 м батометром, мул з прибережної смуги з глибини 5-10 см спільно із працівниками інституту "Гірхімпром" НАН України. Проби висівали у середовище Постгейта С, яке замість сульфатів містило елементарну сірку, для отримання нагромаджувальних культур. Бактерії культивували впродовж 10 діб за анаеробних умов при

30^0С. Отриману суспензію клітин (0,05 мл) висівали у агаризоване середовище й отримували окремі колонії, кожну з яких культивували в окремих пробірках. Відібрали 10 культур, найбільш інтенсивно забарвлених FeS у чорний колір.

Ріст сірковідновлювальних бактерій перевіряли на селективному для них середовищі Постгейта С зі сіркою, а також на середовищах: Постгейта С, Баалсруда, Гільтая, Ван-Ніля, крохмало-аміачному, м'ясо-пептонному бульйоні, суслі. Припустили, що досліджувані бактерії належать до сірковідновлювальних, оскільки на всіх, крім селективного, середовищах ріст виділених культур, як і штаму *Desulfuromonas acetoxidans*, виявився відсутнім. На середовищі Постгейта С з сіркою біомаса культур *Yavor-1- Yavor-10* становила 1,6 – 2,7 г/л, *D. acetoxidans* – 1,8 г/л.

За відсутністю росту інкубованих при +80°С впродовж 10 хв культур на середовищі Постгейта С зі сіркою, а також у результаті вивчення морфології клітин після фарбування (для виявлення спор) за Пєшковим-Трухільйо, зробили висновок про те, що жодна з культур здатністю до спороутворення не володіла. Завдяки використанню реакції фарбування клітин за Грамом, досліджувані бактерії було ідентифіковано як грамнегативні. За морфологією (світловий мікроскоп, збільшення в 1440 разів) клітини всіх культур поодинокі, овальні, паличкоподібні або віброїдні, інколи зігнуті, розміром 0,4-0,8 · 1-4 мкм.

Таким чином, за морфологією і деякими фізіологічними особливостями культури *Yavor-1-Yavor-10* можна попередньо віднести до четвертої підгрупи сірковідновлювальних бактерій згідно з Берджі, роду *Desulfuromonas*.

Якимчук Г., Перетятко Т., Гудзь С.

ВИКОРИСТАННЯ СІРКО- І СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ ДЛЯ БІОРЕМЕДІАЦІЇ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА ВІД ІОНІВ Cu^{2+}

Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Грушевського 4, м. Львів 79005, Україна,
jakim200909@gmail.com

Важкі метали є небезпечними ксенобіотиками, які потрапляють у навколишнє середовище внаслідок діяльності людини. За участю бактерій відбувається осадження і міграція важких металів у водоймах та їх залучення у глобальні біогеохімічні цикли. Продукт життєдіяльності сірко- та сульфатвідновлювальних бактерій – гідроген сульфід – може взаємодіяти з іонами важких металів, утворюючи нерозчинні сульфіди металів, або відновлювати розчинні токсичні метали з утворенням менш токсичних або менш розчинних форм.

Досліджено здатність клітин сірковідновлювальних бактерій *Desulfuromonas acetoxidans* осаджувати купрум (II). Виявлено, що максимальну кількість гідроген сульфіду сірковідновлювальні бактерії продукують за концентрації іонів купруму (II) в інкубаційній суміші 0,1 мМ. При збільшенні концентрації металу до 5 мМ рівень нагромадження гідроген сульфіду бактеріями знижується, що свідчить про пригнічення їх сірковідновлювальної активності.

Збільшення концентрації клітин *D. acetoxidans*, концентрації Cu^{2+} і тривалості інкубації призводить до практично повного осадження іонів купруму (II) у концентрації 0,5 мМ протягом 6 годин. На цей час в інкубаційній суміші нагромаджувалася в 1,4–1,7 разу менша кількість гідроген сульфіду порівняно з контролем (без іонів купруму). При додаванні Cu^{2+} у концентрації 2,5–5 мМ через 24 години концентрація гідроген сульфіду була нижчою у 3 рази. Концентрація металу при цьому практично не змінювалася. Причиною цього може бути пригнічення росту і, відповідно, сірковідновлювальної активності *D. acetoxidans*, оскільки згідно з літературними даними відомо, що купрум (II) у такій концентрації виявляє токсичну дію на більшість мікроорганізмів.

Досліджено процеси нагромадження гідроген сульфіду та використання сульфату відмитими клітинами сульфатвідновлювальних бактерій *Desulfovibrio desulfuricans* за різних концентрацій купруму (II) в інкубаційній суміші. Встановлено, що за концентрації іонів купруму (II) 0,5 мМ сульфатвідновлювальні бактерії практично повністю його осаджують через 6 годин. При цьому в середовищі виявлялася ще досить висока концентрація гідроген сульфіду. За наявності в інкубаційній суміші 5 мМ іонів купруму нагромадження гідроген сульфіду не спостерігається, а концентрація сульфату і металу при цьому практично не змінюється, що свідчить про його токсичний вплив на досліджувані мікроорганізми.

Отже, використання сірко- та сульфатвідновлювальних бактерій є перспективним для біоремедіації навколишнього середовища від іонів Cu^{2+} за їх концентрації 0,1–1 мМ у середовищі.

Galkin O. Yu.

OBTAINING OF MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST HUMAN IGM AND THEIR USAGE IN IMMUNOBIOTECHNOLOGY

National Technical University of Ukraine "Kiev polytechnic Institute",
Peremogy av., 37, Kyiv, 03056, Ukraine
alexfbt@gmail.com

Immunobiotechnology aims to targeted synthesis of new biologically active substances, which, inter alia, also include monoclonal antibodies (MAbs), which are widely used in modern diagnosis and therapy. MAbs as opposed to polyclonal sera are characterized by exceptional specificity and homogeneity, as well as the possibility of virtually unlimited quantities. Identity of MAbs' isotype and idiotype provides precision quality and therefore reproducibility of analytical methods [Goding, 1996; Johnstone, 1997].

It is widely know that hybridomas technology allows decomposed components of the immune response and thus have the opportunity to choose hybrid clones with these properties (activity, specificity, affinity, epitop specificity, isotype), which previously have practical value, particularly to develop high specific and sensitive immunological methods. However, if not clearly established selection criteria MAbs, the task of developing methods for identification, purification and assay of substances inevitably leads to extremely laborious and long and not always successful selection of clones of antibodies for immunoassay [Gosling, 2000; Nikolaenko et al., 2003].

An original set of 21 novel clone hybridomas – producers of monoclonal antibodies to human IgM – has been obtained. Advanced study of biotechnological characteristics of the antibodies has been carried out: their specificity, affinity constant, and titer in culture medium have been determined. The epitope structure of human IgM molecule has been found to contain three basic epitope regions (ER): A, B, and C. ER A includes 1 predominant epitope A1, represented by the highest number of high affinity MAbs, and 2 adjacent epitopes A2 and A3 of medium affinity. ER B contains 2 adjacent epitopes B1 and B2 with medium affinity MAbs. ER C includes only 1 epitope with medium affinity MAbs. Epitope specificity of anti-IgM MAbs has been proven to depend on immunization scheme. The short-term immunization scheme results in mono-specificity of anti-ER-A antibodies, and the prolonged scheme causes the produced MAbs to be directed against antigenic determinants ER-B and ER-C. A comparative study of the possibility of using both immunization schemes for production of MAbs against human IgM has been conducted. Considering high immunochemical characteristics of MAbs, rapid results, and the absence of allergic reactions in Balb/c mice, the short-term immunization scheme appears more convenient and adequate.

Diagnostic characteristics of produced MAbs used as a complex with immunoenzyme conjugate and immunosorbent have been studied. Information capacity of one MAb conjugate exceeded that of a well-known analogue CH2 (Sorbent, Russia), and another three MAbs within the sorbent complex ensured better analytical properties versus MB11 MAbs (Sigma, USA). A possibility of using 2 MAb-based conjugates in test systems to diagnose cytomegalic inclusion disease and Epstein-Barr viral infection, as well as 3 MABs within a test kit immunosorbent for diagnostics of toxoplasmosis, rubella, urogenital chlamidiosis, and simplex herpes has been proven.

A high sensitivity immunoenzyme kit for total IgM assay of analytical sensitivity 11 ng/ml has been elaborated. A well-reproducible and easy method of specific human IgM isolation using the produced anti-IgM MAb-based immunoaffine sorbent has been proposed.

Klemantovich A., Myamin V., Pesnyakevich A.

ANALYSIS OF GENETIC DIVERSITY OF THE GREENHOUSE TOMATO PATHOGENS IN BELARUS

Belarussian State University,
Nezavisimost Ave. 4, Minsk, Belarus;
anna.klemantovich@gmail.com

Bacterial diseases damage to different agricultural crops. For instance, the abundance of tomato bacterial infections in greenhouses may reach over 80%. The main objective of this investigation was to estimate the species diversity of tomato indoor communities in a range of greenhouse farms and analyse genetic diversity of detected pathogens.

During 2006 - 2009 years vegetating plants were observed in 9 greenhouse farms. Upon the detection of bacterial infection samples were taken for laboratory analysis. Microorganisms were

purified from the infected samples using standard microbiology techniques. The species were identified by PCR-analysis with specific primers recommended in. Some species was being identified by sequencing of 16S RNA gene. Analysis of the pathogen diversity suggests that bacterial canker (causative agent is *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*) was a prevalent tomato disease within a range of the observed greenhouse farms in Belarus in 2006 - 2009.

These and several reference *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* strains were characterized genotypically by analysis repetitive extragenic palindromic PCR (rep-PCR) genomic fingerprints with two oligonucleotide primer pairs Rep1R-I/Rep2-I (REP), ERIC 1R/ERIC2 (ERIC) and one single oligonucleotide primer BOX A1R.

Rep-PCR analysis show that isolates could be clustered into several groups and estimate considerable genetic diversity Belarusian *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* strains.

Kudzina I., Haravik Y., Seliazniova Y., Zagdaj E., Lagonenko A., Evtushenkov A.

CHARACTERISTICS OF BELARUSIAN STRAINS OF *ERWINIA AMYLOVORA*

BSU, Nezavisimosti str, 4, 220030, Minsk, Belarus
kuddya@gmail.com

Fire blight was recorded in the Republic of Belarus in 2007. Causative agent of this disease is *Erwinia amylovora*. We have extracted 12 isolates of the pathogen from apple and pear gardens of Grodno and Minsk regions of the republic.

It is necessary to have exhaustive characteristic of causative pathogen for successful control of the disease.

In this work we report the preliminary genetic characteristics of 12 Belorussian *Erwinia amylovora* strains, isolated from apple and pear trees in different regions of Belarus in comparison with several type strains from Poland, Germany and Great Britain. These strains were analyzed by RFLP of the pEA29 *Pst*I amplified fragment, rep-PCR, RAPD and PCR-ribotyping techniques. All tested *E. amylovora* strains, except 1/79 and K2108, had 5 repeats in the SSR array on pEA29 plasmid. Strain *E. amylovora* 1/79 had 6 repeats and strain *E. amylovora* K2108 had more than 6 repeats. REP, ERIC and PCR-ribotype DNA fingerprints were identical in all cases. PCR-ribotype 3 was detected among all *E. amylovora* strains. Using RAPD PCR, DNA polymorphism was found within the strains, but Belarusian isolates were undistinguishable from *E. amylovora* isolates from other countries.

We studied a degree of virulence of all strains in comparison with strains from Poland, German and Great Britain. Leaves of pear, immature pear fruits and vegetation pear plants were inoculated with all 17 *Erwinia amylovora* strains in this research (12 Belorussian and 5 foreign strains). There were no valid differences in the degree of virulence of all strains from Belorus, strain Ea1/79 from German and strain Ea646 from Poland. Strain from Great Britain EaLMG 2024, strains from Poland Ea133/95 and Ea659 showed reduced virulence.

Erwinia amylovora is known as a pathogen of *Rosaceae* and have a wide host range within that family. We have investigated difference plants from family *Rosaceae* growing on the territory of Belarus for susceptibility to *E.amylovora*. For this matter we use 7 strains of the pathogen including 4 strains from Belorus, 1 from Poland, 1 from German and 1 from Great Britain. Leaves of 11 species of plants (*Prunus* sp., *Malus* sp., *Cydonia*, *Rubus* sp., *Amelanchier*, *Chaenomeles*, *Crataegus*, *Sorbus*, *Fragaria*, *Aronia*) were inoculated with these strains. In the preliminary tests were established that *Prunus* sp., *Malus* sp., *Cydonia*, *Rubus* (blackberry and raspberry) susceptible to fire blight.

Pobiega M., Chmielarczyk A., Romaniszyn D., Wojkowska-Mach J.

ANALYSIS OF OCCURRENCE OF THE MOST IMPORTANT PHENOTYPES OF RESISTANCE TO ANTIBIOTICS AMONG GRAM-NEGATIVE MICROBES ISOLATED FROM ASYMPTOMATIC BACTERIURIA IN LONG-TERM CARE FACILITIES (LTCF) RESIDENTS IN KRAKOW, POLAND

Jagiellonian University Medical School
Czysta 18, 31-121 Kraków, Poland
monika.pobiega@gmail.com

Nowadays when lower number of antibiotic options are available it is very important to study the susceptibility of pathogens. One of the most clinically and epidemically important mechanism of

resistance is the ability to produce extended-spectrum beta-lactamase (ESBL). ESBL+ strains were typical for nosocomial infections. These days they are more often found in *Escherichia coli*, *Proteus* spp. and *Klebsiella pneumonia* which are a component of normal human flora in intestinal canal. Unfortunately, it is not yet a routine to test medical specimens how drug-resistance is held. Knowledge of the microbiological profile and antibiotics susceptibility may help to improve care of patients and residents and to define prevention and surveillance strategies.

The aim of the study was to analyze the population of microbes isolated from 102 residents from LTCF – identification of species and phenotypical resistance to antibiotics

Urine samples were taken from residents (asymptomatic bacteriuria), placed on agar plates and incubated at body temperature. After phenotypic identification, PCR method was used to confirm the most common species, such as *E. coli (tuf* gene*)*, *K. pneumoniae* (16S-23S rRNA ITS) and *P. aeruginosa (*16S-23S rRNA ITS). API ID 32E (bioMйrieux Industry) was used to recognize the other strains. Kirby-Bauer antibiotic testing with antibiotic-impregnated wafers (Becton Dickinson) was used to test the sensitivity of particular bacteria to 13 specific antibiotics (ceftazidime, aztreonam, cefotaxime, amoxicillin, amoxicillin with clavulanic acid, cefurixime, nitrofurantoine, trimetoprime/sulfamethoxazole , cefepime, fosfomycine, gentamycine, imipenem, ciprofloxacine).

Among 102 bacteria identified (79.4% with PCR method, the rest using API), 62.7% were *E. coli*, 11.7% *K. pneumoniae,* 11.7% *Proteus* spp., 4.9% *P. aeruginosa*, 4.9% *M. morgani*. We identified also 2 *Citrobacter*, 1 *K. oxytoca* and 1 *E. aerogenes*. 8.8% of all residents had polymicrobial result. We found moderate levels of antibiotic resistance: 24.5% of all etiologic agents were susceptible to all used antibiotics. 61.8% of all *Enterobacteriacae* were resistant to ampicillin, 42.3% to trimethoprim/sulfamethoxazole, 29.9% to ciprofloxacin and 20.6% to nitrofurantoin. The occurrence of EBSL strains among all the bacteria reached 9.8%, half of them were ESBL+ *E. coli*. There were no imipenem-resistant strains.

CONCLUSION

The results of this study showed that *E. coli* was the most frequently isolated microorganism. The number of ESBL+ pathogens was relatively low. The majority of identified bacteria were resistant to ampicillin. What is positive, there were no strains resistant to imipenem (which belongs to carbapenems, last resort antibiotics).

Sadovskaya O., Lagonenko A., Evtushenkov A.

CHARACTERISTIC OF BACTERIOPHAGE ФEA2809 OF *ERWINIA AMYLOVORA*

BSU, Nezavisimosti str, 4, 220030, Minsk, Belarus
kuddya@gmail.com

Bacteriophage able to infect the fire blight pathogen *Erwinia amylovora* was isolated from apple shoots, collected in a apple orchard in Smolevichi region of Belarus. This phage (фEa2809) was able to form plaques on 17 of the 18 *Erwinia amylovora* and on the 26 of the 30 *Erwinia herbicola* strains tested. Based on transmission electron microscopy, the morphology of фEa2809 will place this phage to the family *Myoviridae*. фEa2809 consisted of an icosahedral head (83 nm) and contractile tail (130 nm). Purified phage DNA was subjected to restriction analysis with EcoRI, BglII, BamHI, HindIII, TasI, BstEII, XbaI, PvuII, PstI, NdeI, AsuII, NcoI, ClaI, SmaI, XhoI, NotI, Eco130I, DraI, VspI, but only HindIII, DraI, TasI and VspI digestion yielded detectible restriction fragments.

МОЛЕКУЛЯРНА ТА КЛІТИННА БІОЛОГІЯ / MOLECULAR AND CELL BIOLOGY

Batiuk M., Boldyrev O., Shuba Y.

T-TYPE CALCIUM CHANNELS' MRNA EXPRESSION IN THALAMIC LATERODORSAL NUCLEUS AND SOMATOSENSORY CORTEX OF WAG/RIJ STRAIN OF RATS DURING ONTOGENESIS

International Center of Molecular Physiology, NAS of Ukraine
Bogomoletz St., 4, ICMP Building, Kiev, 01024, Ukraine
myhaelis@gmail.com

Absence epilepsy (petit mal) is a non-convulsive form of epilepsies. Often, it's a children's illness, known as childhood absence epilepsy (CAE). WAG/Rij strain of rats is a genetic model of this type of epilepsy. WAG/Rij rats have all main symptoms of this illness, like spike-wave discharges (SWD), loss of consciousness, absence of convulsions, genetic predisposition etc. Neurobiological cause of SWD is a generation and propagation of synchronous neuronal activity through thalamo-cortico-thalamic loops. Main elements of these loops are thalamo-cortical neurons (in the relay nuclei), cortico-thalamic pyramidal neurons and thalamic reticular nucleus' neurons. Several theories set a pacemaker of SWD into a thalamic reticular nucleus, brain stem or cortical focus. Meeren et al.(2002) revealed cortical focus in the somatosensory cortex of the upper lip. Molecular causes of absence epilepsy are not clearly defined. Broicher et al. (2008) showed increase of T-type calcium channels' expression in the three thalamic nuclei (lateral geniculate nucleus; centrolateral nucleus; reticular nucleus) of WAG/Rij rats. Chen et al. (2003) revealed that single nucleotide polymorphisms of CACNA1H (Cav3.2 T-channel) are associated with childhood absence epilepsy. Although, a T-channels' non-specific blocker ethosuximide inhibits SWD activity.

We investigated three T-channels' (Cav3.1, Cav3.2, Cav3.3) mRNAs expression in the thalamic laterodorsal (LD) relay nucleus and somatosensory cortex of the upper lip (cortical focus) during ontogenesis of WAG/Rij rats. We used a TaqMan Real Time PCR system for quantitative estimation. Three age groups of rats were taken for expression measurements in the cortical focus (10 days, 25 days, 6 months) and two groups for measurements in the LD nucleus (10 days and 25 days). CACNA1I (encodes Cav3.3 T-type channel) mRNA was the most abundant in the cortical focus, with levels higher by 9-17 times than CACNA1G in young rats (10 days and 25 days respectively) and nearly at the same level in adult 6 months old rats. Although, CACNA1I mRNA expression was higher by 65-58 times in comparison with CACNA1H (encodes Cav3.2 channel) in young rats and by 5 times in adult rats. T-type channels' mRNAs expression was increased in the cortical focus of Wag/Rij rats in comparison with control Wistar strain. We observed increase of the CACNA1H mRNA level by 1.8 times in 10 days old rats, by 2.5 times in 25 days group and by 30% in 6 months old rats. CACNA1G (encodes Cav3.1 channel) mRNA level was nearly the same in 10 days old epileptic and control rats, elevated by 2 times in 25 days old WAG/Rij rats and by 2.5 times in 6 months group. CACNA1I mRNA expression was higher by 30% in 10 days old group of epileptic rats, by 37% in 25 days old group and nearly the same in 6 month old WAG/Rij and Wistar rats. Such overexpression of the low-threshold calcium channels could lead to the increased burst neuronal activity seen in SWD. These data indicated role of Cav3.2 in the genesis of absence epilepsy at the all stages of ontogenesis, Cav3.1 after puberty and Cav3.3 at the early stages. CACNA1I mRNA was the most abundant in the LD nucleus, with the levels higher by 8 and 80 times (10 and 25 days old rats respectively) in comparison with CACNA1H and by 2-9 times as compared with CACNA1G mRNA. Unlike cortical focus, LD nucleus' amounts of T-channels' mRNAs were decreased in epileptic rats. The levels of CACNA1I and CACNA1H mRNAs were the same in 10 days old WAG/Rij and Wistar rats and decreased by nearly 38-37% in 25 days old epileptic rats. CACNA1G mRNA level was decreased by 1.8 times in 10 days group and by 3 times in 25 days group. Such decreased expression could indicate some compensatory mechanisms against overactivity of thalamo-cortical neurons.

Гуменюк Р.[1,2], Курліщук Ю.[2], Стасик О.[2], Бобак Я.[2]

АНАЛІЗ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ ФЕРМЕНТІВ МЕТАБОЛІЗМУ АРГІНІНУ В КЛІТИНАХ МЕЛАНОМИ ЛЮДИНИ

[1] Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна
[2] Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова 14/16, м. Львів, 79005, Україна
roksolanahumenjuk@gmail.com

Меланоми відносять до найбільш злоякісних пухлин людини, внаслідок швидкого росту ракових клітин та їх здатності утворювати метастази. Одним із сучасних підходів до ліку-

вання меланом є ензимотерапія, що ґрунтується на використанні аргінін деградуючих ферментів: аргінази та аргініндеімінази. Однак під час клінічних досліджень було встановлено, що не всі пухлини цього типу однаково чутливі до ензимотерапії. Саме тому визначення механізму чутливості чи резистентності клітин меланоми до дефіциту аргініну дозволить визначити найефективніший тип протиракової терапії для кожного пацієнта.

Однією з причин чутливості трансформованих клітин до відсутності певних амінокислот у середовищі може бути рівень експресії генів їх метаболізму. Метою нашої роботи було проаналізувати, чи меланомна трансформація клітин шкіри призводить до зміни експресії генів метаболізму аргініну та чи чутливість клітин до голодування за цією амінокислотою визначається рівнем експресії відповідних генів.

У роботі використано низку людських клітинних ліній: меланоми (WM-1158, WM-115, WM-451, MeWo та SK-MEL-28), карциноми шкіри (A-431) і трансформовані кератиноцити (HaCaT). Методом ПЛР-аналізу і з зворотною транскрипцією проаналізовано експресію генів ферментів, залучених у катаболізмі аргініну: аргініндекарбоксилазу (ADC), аргінази (ARG1, ARG2), а також індуцибельну синтазу оксиду азоту (iNOS). Виявлено, що ген аргінази 1 не експресується у жодній із досліджуваних клітинних ліній. Встановлено поліморфізм щодо експресії генів ARG2, iNOS та ADC. При цьому не виявлено значної відмінності в експресії цих генів між меланомними та немеланомними клітинними лініями. Проаналізовано експресію генів ферментів ресинтезу аргініну з його попередників орнітину та цитруліну, а саме: орнітинтранскарбамілази (OTC) та аргініносукцинатсинтетази (ASS). У клітинах меланом виявлено лише слідові кількості мРНК транскриптів цих генів, натомість, у немеланомних ліній рівень експресії гена ASS був високим. Результати вестерн-блот- аналізу OTC та ASS, в основному, відповідали рівню експресії мРНК.

Для дослідження впливу голодування за аргініном на проліферацію клітин нами було обрано лінію SK-MEL-28 меланоми людини. У цієї лінії спостерігався високий рівень експресії генів ARG2, ADC і низький − генів ASS, OTC та iNOS. При дефіциті аргініну в середовищі не виявлено індукції експресії білків ASS та OTC у клітинах SK-MEL-28, що може впливати на їх чутливість до голодування за цією амінокислотою. За відсутності аргініну в культуральному середовищі ріст клітин SK-MEL-28 припиняється. Проте суттєве зростання кількості загиблих клітин спостерігається лише на 72 годину голодування. Встановлено часозалежне зниження здатності клітин відновлювати проліферацію після появи у середовищі аргініну.

Отже, в проаналізованих клітинних лініях виявлено відмінності за рівнем експресії генів катаболізму аргініну ARG2, iNOS, ADC. Злоякісна трансформація клітин меланоцитів, на відміну від трансформації кератиноцитів, супроводжується незначним зростанням експресії OTC та суттєвим зниженням експресії ASS порівняно з псевдонормальними клітинами шкіри. Відсутність аргініну в культуральному середовищі призводить до зупинки росту клітин лінії SK-MEL-28 та індукує їх загибель. Водночас здатність клітин до відновлення проліферації залежить від тривалості голодування.

Єфанова О., Шестакова Т., Межуєв О.

РОЗРОБКА ПРОТИПУХЛИННОЇ ДНК-ВАКЦИНИ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЇЇ ЕФЕКТИВНОСТІ В КОМПЛЕКСНІЙ ІМУНОТЕРАПІЇ

Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Кавецького Національної академії наук
вул.Васильківська, 40, Київ, Україна

Метою нашої роботи було встановлення та вивчення біологічних властивостей трансмембранного глікопротеїну муцину 1 та використання його як антигену - мішені імунної системи для створення потенційно ефективної протипухлинної вакцини.

Методи та результати: створений муцинвмісний вектор на базі плазміди pSecTag 2A Neo mBD, що використовувався як ДНК-вакцина у комплексній імунотерапії. За сайтами рестрикції Xho I та EcoR I до плазміди був вбудований ген екстрацелюлярної частини муцина, що має молекулярну масу 180 кДа та складається з 470 п.н.

Як модель вибрана культура клітин 3LL – злоякісна швидкопрогресуюча карцинома Льюїса з високим рівнем метастазування. Клітини у кількості $3x10^5$ трансплантовані дослідним тваринам (BlC37 самці у віці 2-2,5 місяці, вагою 20-22 г).

Вакцинація кожної групи тварин проводилась за різних режимів (профілактичний, терапевтичний) та різних доз вакцини.

Проведений ряд аналітичних досліджень, метою яких було продемонструвати розвиток цілеспрямованої протипухлинної клітинної та гуморальної відповідей.

На 20-й день від початку вакцинації у тварин дослідної та контрольної груп отримана сироватка. За допомогою вестерн–блот–аналізу встановлено наявність антитіл у сироватці крові тварин, що проходили комбіновану терапію вакциною на фоні прийому вітаміну D_3.

Клітинна відповідь на введення вакцини була перевірена на гістологічному рівні. Для цього на 21-й день після трансплантації трансформованої клітинної культури отримані зразки пухлинної тканини, проведене приготування фіксованих гістологічних препаратів та фарбування за допомогою гематоксилін-еозинової системи.

Морфологічний аналіз пухлинної тканини продемонстрував підвищення макрофагової активності у особин, що проходили комбіновану протипухлинну терапію з використанням вакцини та вітаміну D_3, на що вказує наявність ділянок деструкції тканини у відповідній групі.

Для проведення порівняльного аналізу експресії антигену Muc1 у здорових тканинах та тканинах пухлинного походження, з них отримано мРНК і проведені реакції зворотної транскрипції та реакція ПЛР. Проведені дослідження показали, що експресія Muc1 активно відбувається в онкотрансформованих тканинах різного походження і взагалі не спостерігається у тканинах та органах, що перебувають у здоровому стані.

Висновок:

1. Муцин – онкоспецифічний глікопротеїн, що доведено за допомогою ПЛР–аналізу за наявністю експресії антигену в онкотрансформованих зразках та її відсутністю у здорових тканинах.
2. У ході досліду була доведена наявність гуморальної імунної відповіді зі сторони групи тварин, що були вакциновані трансгенвмісним вектором. Про це свідчить виявлення специфічних антитіл до муцину в сироватці крові дослідних тварин.
3. Спостерігається розвиток клітинної відповіді на введення ДНК-конструкту, що доведено на гістологічному рівні за допомогою фіксованих препаратів пухлинної тканини.
4. Вітамін D 3 є потужним імуностимулюючим агентом у процесі протипухлинної терапії.

Колодяжний О., Гринчук К.

ВИКОРИСТАННЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИХ МЕТОДІВ ДЛЯ ВИВЧЕННЯ МІКРОБНИХ ЦЕНОЗІВ ЧОРНОЗЕМІВ

Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони 15, м. Київ, 03041, Україна
O.kolodjazhny@i.ua

Мікробні ценози – один із найрізноманітніших і розповсюджених типів просторово-функціональної організації живих угруповань на Землі. Мікробіоті належить важлива роль у функціонуванні, різних екосистем, вони відіграють вирішальну роль у метаболізмі органічної речовини, в біогеохімічній трансформації хімічних елементів (Н.В. Патика, 2009).

Одна із ключових проблем екологічної мікробіології полягає в об'єктивній і якнайповнішій оцінці біорізноманіття мікробного комплексу будь-якої екосистеми. Використання традиційних мікробіологічних методів дослідження мікрофлори грунту дозволяють виявити тільки ті види і форми мікроорганізмів, що культивуються на селективних поживних середовищах. Цими методами за різними оцінками враховується від 0,1 до 10% мікроорганізмів у грунті (Патика М.В., 2009).

Мікробні ценози є дуже гетерогенними і включають у себе різні організми з найрізноманітнішими метаболічними властивостями. Для того, щоб виявити й описати таке біорізноманіття, необхідні нові, сучасні, надійні й точні методи, що дозволяють провести як детекцію, так і ідентифікацію груп мікробного грунтового ценозу. Останнім часом широкого розповсюдження набули молекулярно-генетичні методи, що дозволяють вивчити мікробні ценози на молекулярному рівні й ідентифікувати некультивовані («uncultured») та невідомі («unknown») види грунтової мікробіоти (*Akkermans at*., 1994; *Buckley*, 2003). Такі методи сприяють розвитку принципово нових можливостей у дослідженнях мікробіологічних ценозів (Кордюм В.А., 2008).

Мета досліджень полягала в адаптації методики виділення тотальної ДНК з грунтових мікроорганізмів для чорноземів типових.

Дослідження проводились на базі польових дослідів кафедри загального землеробства та гербології ВП НУБіП України «Агрономічна дослідна станція».

Територія дослідної станції розташована в правобережній частині Лісостепу України і входить до складу Білоцерківського агрогрунтового району. Рельєф місцевості рівнинний. Грунтові води залягають на глибині 2-4м. Грунт дослідної ділянки – чорнозем типовий малогумусний, за гранулометричним складом крупно-пилувато-середньосуглинковий.

Зразки грунту відбирали в період активної вегетації цукрових буряків, пшениці та гороху із верхнього 15 см орного шару. Відбір грунтових зразків для молекулярно- генетичних досліджень проводили з таких варіантів: 1 – цукровий буряк, екологічна система вирощування (с.в.); 2 – цукровий буряк, промислова с.в.; 3 – цукровий буряк, біологічна с.в.; 4 – пшениця, біологічна с.в.; 5 – пшениця, екологічна с.в.; 6 – пшениця, промислова с.в.; 7 – горох, біологічна с.в.; 8 – горох, промислова с.в.; 9 – горох, екологічна с.в.

Екстракцію ДНК проводили з використанням СТАВ-буфера (Патика М,В. 2009, Duarte G. F., Rosado A. S., Seldin L. et al., 1998).

Візуальну детекцію отриманих зразків ДНК проводили після електрофоретичного розділення в 1% агарозному гелі. Розмір отриманих зразків ДНК в усіх досліджуваних варіантах був більший за 3000 pb.

Таким чином, у результаті досліджень вперше було отримано високоефективний метод отримання тотальної ДНК організмів із чорноземів типових, що дає змогу виявити значну кількість грунтових мікроорганізмів для подальшого вивчення таксономічного складу мікробних ценозів.

Крупак В.[1], Панчук Р.[2]

ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННИХ І МОЛЕКУЛЯРНИХ МЕХАНІЗМІВ ІНДУКЦІЇ ЗАГИБЕЛІ ЗЛОЯКІСНИХ КЛІТИН ЗА ДІЇ СПОЛУК НА ОСНОВІ 4-ТІАЗОЛІДОНІВ

1 – Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна.
2 – Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна.
v_krupak@hotmail.com

На сьогодні хіміотерапія є найпоширенішим і найефективнішим напрямом лікування онкозахворювань. Однак усі сучасні протипухлинні препарати мають ряд суттєвих недоліків, які суттєво обмежують можливості їх використання у клініці: значна токсичність щодо нормальних клітин організму, поява набутої резистентності пухлин до ліків, а також висока вартість їх виробництва.

В останнє десятиліття увагу фармакологів привернули синтетичні сполуки гетероциклічної природи – похідні 4-тіазолідону. Вони володіють рядом біологічних активностей: антибіотичною, протизапальною, імуномоделюючою та ін. Дослідження, проведені в Національному Інституті Раку (National Cancer Institute, Bethesda, USA), показали, що 4-тіазолідони також проявляють значний антинеопластичний потенціал на різні лінії пухлинних клітин *in vitro*. Однак молекулярні механізми дії цих сполук на злоякісні новоутворення досі залишаються нез'ясованими.

У нашій роботі були використані сполуки *Les-3120*, *Les-3166* та *Les-3372* на основі 4-тіазолідону, синтезовані в лабораторії проф. Р.Б. Лесика кафедри фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Метою даної роботи було дослідження шляхів і механізмів загибелі злоякісних клітин за дії вищезгаданих речовин, оскільки важливим аспектом будь-якого антинеопластичного агента є його здатність індукувати апоптоз – запрограмовану, або ж «природну», загибель клітин.

Висока протиракова активність досліджуваних сполук була показана на злоякісних клітинах Т-лейкемії людини (лінії *Jurkat* та *CCRF-CEM*), карциноми молочної залози людини (лінії *MDA-MB-231* та *MCF-7*), а також клітинах фібросаркоми миші (лінія *L929*). За даними електрофорезу ДНК в 1% гелі агарози, вивчення гіперконденсації хроматину за допомогою фарбування клітин барвником DAPI та подвійним міченням клітин Jurkat анексином V (маркер раннього апоптозу) і пропідій йодиду (маркер некрозу) показано, що похідні 4-тіазолідону *Les-3120*, *Les-3166* та *Les-3372* індукують апоптоз у клітинах-мішенях. Цей процес опосередковується ефекторними каспазами-3,-7, які розщеплюють репаративні білки PARP-1 та DFF45, що було досліджено за допомогою Вестерн-блот аналізу.

Крім того, на клітинах лінії мишачого лейкозу *L1210/S* та *L1210/R*, чутливих та резистентних до цисплатину, була показана здатність сполук на основі 4-тіазолідону долати набуту стійкість лейкемічних клітин до цисплатину. Токсикологічні дослідження Les-3120 на мишах лінії Balb/c показали, що навіть у надвисоких дозах (>400 мг/кг) цей препарат не проявляв вираженої токсичності, на відміну від доксорубіцину (LD_{50} 20 мг/кг). Отримані результати свідчать про перспективність подальших досліджень молекулярних шляхів протипухлинної дії 4-тіазолідонів *in vivo* на моделях мишачих лейкемій і лімфом, що дасть змогу з'ясувати їх терапевтичний потенціал.

Курліщук Ю., Винницька Б., Бобак Я., Стасик О.

АНАЛІЗ ЧУТЛИВОСТІ ТРАНСФОРМОВАНИХ ЛЮДСЬКИХ КЛІТИН РІЗНОГО ПОХОДЖЕННЯ ДО ГОЛОДУВАННЯ ЗА АРГІНІНОМ

Інститут біології клітини НАН України
вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, Україна, 79005
kurlishchukyuliya@gmail.com

Аргінін – напівзамінна амінокислота, задіяна в багатьох метаболічних, сигнальних і регуляторних процесах клітини. У сучасній медицині голодування за аргініном використовується як новий альтернативний підхід до терапії деяких типів пухлин, зокрема гепатокарциномом, меланом і ретинобластом. Проте причини чутливості чи резистентності ракових клітин до дефіциту аргініну залишаються недостатньо дослідженими. Тому метою нашої роботи було проаналізувати вплив голодування за аргініном на проліферацію, життєздатність і експресію генів ферментів метаболізму цієї амінокислоти у людських клітинах аденокарциноми легень (A549), аденокарциноми молочної залози (MCF7), кератиноцитарної карциноми (A431), гепатокарциноми (HepG2) та клітинах ембріональної нирки людини (Hek293).

На першому етапі проаналізовано чутливість ракових клітин до голодування за аргініном. Дефіцит цієї амінокислоти у середовищі інгібує проліферацію клітин усіх досліджуваних ліній. Однак найінтенсивніше гинуть за таких умов клітини ліній A431 та HepG2. Міжнуклеосомна фрагментація ДНК та білка PARP у цих ліній свідчить про загибель клітин апоптозом. При цьому з'ясовано, що у клітин A431 запускається каспазозалежний апоптоз по мітохондріальному шляху. Після курсу ензимотерапії з використанням ферментів катаболізму аргініну важливо передбачити поведінку клітин після відновлення у кров'яному руслі фізіологічних концентрацій цієї амінокислоти. Для цього клітини, які культивували у середовищі без аргініну впродовж 24, 48 чи 72 годин, переводили на середовище з аргініном і культивували ще 72 години. Клітини ліній A549, MCF7 та Hek293 відновлювали ріст навіть після 72 годин голодування за аргініном, у клітин ліній A431 та HepG2 спостерігалося часозалежне зниження здатності відновлювати проліферацію. Отримані дані дозволили розділити проаналізовані клітини на чутливі до дефіциту аргініну в середовищі (A431, HepG2) та резистентні (A549, MCF7 та Hek293).

Для встановлення причин чутливості клітин до голодування за аргініном проаналізували експресію генів, залучених у метаболізмі цієї амінокислоти. ПЛР аналіз зрілих мРНК транскриптів генів катаболізму аргініну показав, що аргіназа 1 експресується лише у клітин HepG2, тоді як аргіназа 2 й аргінін декарбоксилаза у всіх досліджуваних клітинних лініях. Експресія індуцибельної синтази оксиду азоту виявлена лише в клітинах Hek293 та HepG2, а також у слідових кількостях в A549. Індукція експресії генів катаболізму аргініну за умов дефіциту його у середовищі не виявлена. Проаналізовано експресію генів, залучених в синтезі аргініну з його попередників: орнітину та цитруліну. мРНК орнітинтранскарбамілази виявлено лише у HepG2, однак білковий продукт цього гена та ферментативна активність відсутня у клітинах усіх досліджуваних ліній. Як наслідок, вони не здатні рости на безаргініновому середовищі за присутності орнітину. Ген аргініносукцинатсинтетази (ASS) експресується у клітинах всіх досліджуваних ліній на різному рівні. Клітини A431, MCF7 і HepG2 з високим рівнем ASS здатні ресинтезувати аргінін із цитруліну, низький рівень ASS не дає клітинам A549 утилізувати цитрулін, тоді як у клітин Hek293 відбувається індукція ASS за умов дефіциту аргініну в середовищі і вони набувають здатності використовувати цитрулін як попередник у синтезі аргініну.

Отже, проаналізовані ракові клітини відрізняються за чутливістю до дефіциту аргініну в середовищі. Встановлено, що відповідь клітин на голодування за аргініном не пов'язана і з змінами в експресії як ферментів, катаболізму цієї амінокислоти, так і ферментів задіяних у синтезі аргініну з орнітину або цитруліну.

Łabno A., Ogonek J., Das S., Bereta J., Stalińska K.

INFLUENCE OF ADAM17 EXPRESSION ON PROLIFERATION AND MIGRATION OF MC38 AND B16F10 CELLS

Jagiellonian University
7, Gronostajowa St., 30-387 Krakow, Poland

ADAM17 (a disintegrin and metalloproteinase-17) is a protein that acts as a sheddase cleaving transmembrane proteins and releasing soluble forms of growth factors, cytokines, receptors and adhesion molecules [R.

A. Black, 2001]. ADAM17 plays a pivotal role in various biological processes such as cell proliferation, migration, adhesion that are important for tissue growth and differentiation but also promote tumor development and progression [S. Mochizuki, Y. Okada, 2007]. Significantly increased expression of ADAM17 has been shown in various human cancers – e.g. prostate, colon, kidney, breast and hematological cancers.

Our objective is to study the influence of ADAM17 on proliferation, migration and colony formation of MC38 (murine colon carcinoma) and B16F10 (murine melanoma) cell lines. We established clones for both MC38 and B16F10 with stably silenced ADAM17 using specific shRNA plasmid. The consequence of ADAM17 silencing on proliferation, colony formation and migration were then experimentally demonstrated by MTT assay, soft agar assay and wound healing test, respectively. Although, the difference in their proliferation rate was insignificant, we observed significantly slower migration rate of ADAM17-silenced cells compared to the wild type and mock-transfected cells. Also the ADAM17-silenced cells formed smaller colonies on soft agar compared to the others. Outcomes underline the possible influence of ADAM17 in carcinogenesis and necessity of invention of highly specific inhibitor for the metalloproteinase.

ACKNOWLEDGEMENT: This work is supported by EC grant FP-6, MTKD-CT-2006-042586, ACUP, 42586 and by the Polish Ministry of Science and Higher Education grant Nr 63/6PR UE/2007/7.

Легка Л.[1], Панчук Р.[2]

ДОСЛІДЖЕННЯ IN VITRO АНТИПРОЛІФЕРАТИВНОЇ ДІЇ НА ПУХЛИННІ КЛІТИНИ ТВАРИН І ЛЮДИНИ ДОКСОРУБІЦИНУ У КОМПЛЕКСІ З НОВИМИ НАНОКОМПОЗИТНИМИ СУБСТАНЦІЯМИ

Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського, 4, м.Львів, 79005, Україна
Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів,79005, Україна
Lilya_Lehka@mail.ru

Тягом останніх десятиліть синтезовано і випробувано багато протиракових препаратів, проте їх застосування ускладнене відсутністю ефективних систем доставки препаратів у водному середовищі. Використання наноносіїв дає змогу не лише знизити токсичність ліків, але й досягнути пролонгованого ефекту їх дії в організмі та забезпечити їх адресну доставку в клітини-мішені.

Метою даної роботи було оцінити ефективність іммобілізації протипухлинного препарату доксорубіцину на нових нанорозмірних носіях олігомерної природи та дослідити клітинні й молекулярні механізми дії цих комплексів in vitro на злоякісні клітини порівняно з нативним доксорубіцином.

На першому етапі роботи досліджувався цитотоксичний ефект доксорубіцин-нанокомпозитних комплексів на клітинах лейкемії людини (Jurkat, CCRF-CEM) та миші (L1210). Показано, що доксорубіцин, звязаний з наночастинками, значно ефективніше (в середньому на 40 -50%) інгібує проліферацію пухлинних клітин, ніж нативний доксорубіцин у тій же концентрації як на 24-ту так і на 48-му годину інкубації клітин з препаратом. Найбільш виражений ефект доксорубіцин-нанокомпозитних комплексів спостерігався при дії низьких і наднизьких концентрацій препарату (0,1 та 0,01 мкг/мл, відповідно), тоді як при використанні IC_{50} доксорубіцину (концентрація препарату, при якій гине 50% клітин, 1 мкг/мл) різниця в дії нативного доксорубіцину та його комплексу з нанокомпозитами буламінімальною. Крім того, показано, що носій у нативному стані та в різних концентраціях не володіє токсичним ефектом на клітини-мішені.

Для підтвердження отриманих нами даних на молекулярному рівні, було проаналізовано активність ефекторних каспаз 3, 7 та їх субстрату – білка DFF45, у клітинах Т-лейкемії людини лінії Jurkat, оброблених доксорубіцин-нанокомпозитними комплексами та нативним доксорубіцином. Для цього було використано метод вестерн-блот-аналізу. Нами виявлено, що за дії доксорубіцин-нанокомпозитних комплексів у низьких концентраціях (0,1 мкг/мл) спостерігається дещо сильніша активація ефекторних каспаз, ніж за дії нативного доксорубіцину у тій же концентрації. Розщеплення білка DFF45 також відбувалося інтенсивніше за дії доксорубіцин-нанокомпозитних комплексів, ніж за дії нативного доксорубіцину.

Проведено оцінку конденсації ядерного хроматину клітин аденокарциноми молочної залози лінії MDA-MD-231 за дії різних концентрацій доксорубіцину у вільній та іммобілізованій на носіях формі. Показано, що використання доксорубіцин-нанокомпозитних комплексів викликає інтенсивнішу конденсацію хроматину та порушення структури цитоскелету субстрат-залежних пухлинних клітин, ніж дія нативного доксорубіцину.

Отже, іммобілізація протипухлинного препарату доксорубіцину на полімерних нанорозмірних носіях дає змогу суттєво зменшити діючу концентрацію цього препарату in vitro, осилює його цитотоскичний ефект на клітини- мішені, що було підтверджено на молекулярному та клітинному рівні. Подібний підхід є дуже перспективним у терапії злоякісних новоутворень, оскільки дає змогу хоча б частково вирішити декілька ключових проблем онкології, а саме погану розчинність у воді більшості хіміотерапевтичних засобів, їх високу токсичність та низьку вибірковість дії.

Раденовіч Л.[1], Ніконенко А.[2], Малєєва Г.[2], Кореніч А.[1], Скібо Г.[2]

ОРГАНІЗАЦІЯ МІТОХОНДРІЙ ГІПОКАМПУ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ –ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ CA1 ТА CA3 ЗОН

[1]Центр лазерної мікроскопії , Інститут фізіології та біохімії, факультет біології, Бєлградський університет, Сербія
[2]Відділ цитології, Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ, Україна
вул. Богомольця, 4, Київ 01024
Galina_Maleeva@ukr.net

Мітохондрії відіграють ключову роль у низці процесів, що є надважливими для клітини. Вони є відповідальними за активацію апоптозу, виконують функцію енергетичних станцій клітини, тобто забезпечують її енергетичний метаболізм. Мітохондрії здійснють утилізацію вільних радикалів та контролюють їх концентацію. Оксидативні пошкодження мітохондрій є причиною великої кількості клінічних захворювань, включаючи ішемію, нейродегенеративні захворювання й інсульти.

Гіпокамп є частиною лімбічної системи мозку та виконує ряд важливих функцій. Зокрема, він є відповідальним за довгострокову пам'ять, пов'язану з особистими емоціями та подіями, навчання та просторове орієнтування. Для різних ділянок гіпокампу характерна різна чутливість до ішемічного стану. Найбільш чутливою структурою мозку до пошкоджуючої дії гіпоксії є CA1 зона гіпокампу. Було проведено електрономікроскопічний порівняльний аналіз організації мітохондрій у збудливих синапсах шипиків дендритів у CA1 та CA3 зонах stratum rsdiatum гіпокампу після 7-хвилинної загальної церебральної ішемії у Монгольських піщанок, на 4-й та 7-й дні після реперфузії. Порівнювалась організація мітохондрій пресинаптичних терміналей у CA1 та CA3 областях у контролі та після експериментальної ішемії за такими параметрами: об′ємна частка мітохондрій, частота трапляння мітохондрій у CA1 та CA3 зонах, середня кількість мітохондрій на пресинаптичну термінаь, середня кількість пресинаптичних терміналей і середня кількість пошкоджених мітохондрій на пресинаптичну термінаь. Отримані результати продемонстрували статистично достовірну різницю за цими параметрами між CA1 та CA3 зонами у контрольних та ішемізованих тварин, що може імовірно відповідати раніше встановленим відмінностям у функціонуванні та чутливості цих зон до недостачі кисню і глюкози.

Отже, пост ішемічні зміни в організації мітохондрій у пресинаптичних терміналях CA1 та CA3 зон можуть бути індикаторами метаболічної дисфункції різних частин гіпокампу.

Minia I., Kuklin A., Draguschenko O., Obolenska M.

EXPRESSION OF 2’,5’-OLIGOADENYLATE-DEPENDENT RIBONUCLEASE L GENE AT THE EARLY STAGES OF RAT LIVER REGENERATION

Institute of Molecular Biology and Genetics of NAS of Ukraine
Zabolotny St., 150, Kyiv, 03143, Ukraine

Interferon alpha (IFN-α) is a cytokine which is normally produced by many types of cells in response to different stimuli primary connected with pathogen attack [Bisbal C. and Silverman R.H. 2007]. Mechanism of IFN-α action includes both regulation of transcription of many IFN-α stimulated genes and regulation of activity of already existing proteins. Among different IFN-α targets within the cell there are those responsible for regulation of transcription, regulation of protein synthesis, RNA stability etc. 2’,5’-oligoadenylate synthetase/RNase L is one of the most studied system regulated by IFN-α. These two enzymes act coordinately: 2’,5’-oligoadenylate synthetase synthesizes short oligoadenylates that activate RNase L. Being activated RNase L cleaves several mRNAs most of which are of viral origin. Hence RNase L inhibits viral reproduction. Recently, it was shown RNase L implication in many biological processes which are not connected with viral infection such as cell differen-

tiation, autoimmunity, tumor-suppression, and pro-apoptotic activity. [Englebienne P. 2003, Bisbal C. and Silverman R.H. 2007]. Our previous study indicated transient increase of IFN-α mRNA and protein level at the early stages of rat liver regeneration. [Perepelyuk M. and Obolenskaya M. 2005]. However, exact role of IFN-α and its specific targets in regenerative process remains obscure. RNase L as one of the prominent IFN-α target, may be involved in liver regeneration. To verify this assumption we evaluated RNase L mRNA content in hepatocytes and Kupffer cells (liver resident macrophages) during first twelve hours after triggering liver regeneration.

The rat liver after partial hepatectomy (PHE) and laparotomy (LAP) was used as the corresponding models of liver regeneration and acute phase response. Changes of RNase L mRNA content were determined in two different liver cell populations – hepatocytes (primarily responsible for metabolism) and Kupffer cells (responsible for innate immunity and cytokine production) in 0, 1, 3, 6, and 12 hours after operations using quantitative real-time RT-PCR.

We have shown that the pattern of RNase L mRNA changes in hepatocytes after PHE has three phases: 2 -fold decrease of mRNA content at 1h, 5-fold increase at 3-6h and, finally, 2,5-fold decrease in comparison with intact liver. After LAP the content of RNase L specific mRNA demonstrates moderate decrease. In Kupffer cells PHE causes moderate decrease of RNase L mRNA at 1-6h and abrupt 5-fold decrease at 12h. The level of RNase L mRNA after LAP is upregulated at lh, downregulated from 3 to 12h. It should be mentioned that general RNase L mRNA level in Kupffer cells is 6-fold higher than that in hepatocytes.

These results have demonstrated that RNase L gene expression depicts specific pattern during liver regeneration in comparison to acute phase response. We assume that RNase L can play its distinct role in rearrangement of metabolism by specific cleavage of different mRNA of those genes, which are not vitally indispensable for regeneration process in liver.

Морозова К.

ВІЗУАЛІЗАЦІЯ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННИХ СТРУКТУР ЗА ДОПОМОГОЮ ДВОХ ЧЕРВОНИХ ФЛУОРЕСЦЕНТНИХ БІЛКІВ У ЖИВИХ КЛІТИНАХ

Харківський національний університет ім.В.Н.Каразіна
пл. Свободи, 4, м. Харків, 61077, Україна
kmorozova@rambler.ru

В останнє десятиріччя одним із пріоритетних методів досліджень у біології та медицині стала зажиттєва візуалізація різноманітних процесів у живих організмах, тканинах або клітинах за допомогою флуоресцентних білків. Найбільш актуальним напрямом є вивчення складних клітинних процесів з одночасним використанням декількох флуоресцентних білків (ФБ) із різними спектральними характеристиками. Це потребує розробки та впровадження у практику експериментальної роботи нових ФБ з оптимальними фотохімічними характеристиками.

На прикладі нового червоного флуоресцентного білка TagRFP657 (Morozova, 2010) з максимумом збудження 611 нм та флуоресценції 657 нм було проаналізовано можливості одночасного мічення клітин цим та вже відомим червоним ФБ TurboRFP (довжина хвилі збудження 555 нм та флуоресценції 584 нм) (Merzlyak, 2007). Методами молекулярного клонування було створено химерні генетичні конструкції TagRFP657 з гістоном H2B - H2B-TagRFP657 та TurboRFP з мітохондріальним спрямовуючим пептидом - TurboRFP-mito. Клітини лінії HeLa були трансфековані сумішшю рівних концентрацій зазначених плазмід.

Аналіз результатів трансфекції проводили через 72 години на інвертованому флуоресцентному мікроскопі Olympus IX-81, який був обладнаний фільтрами для збудження та детекції червоної флуоресценції - 540/20 і 575/30 нм, та далеко-червоної флуоресценції - 605/40 і від 640 нм, відповідно. У червоному каналі отримано чітке зображення мітохондрій зі специфічною локалізацією та відсутністю агрегатів. Гістон H2B, що був мічений далеко-червоним ФБ TagRFP657, у червоному каналі не детектували. Далеко-червону флуоресценцію детектували тільки для гістона H2B-TagRFP657. Об'єднання двох зображеннь надає повну інформацію про локалізацію досліджуванних білків у клітині.

Таким чином, візуалізація внутрішньоклітинних структур відтворена за допомогою двох червоних ФБ, флуоресцентні сигнали яких не змішуються. У зв'язку з тим, що автофлуоресценція клітин (флуоресценція флавінів, вітамінів, NAD(P)H) зменшується при збільшенні довжини хвилі, візуалізація у червоному діапазоні дає змогу підвищувати рівень детекції флуоресценції.

[1]Олексинська О., [2]Линів Л., [2]Чень О., [2]Стасик О., [2]Барська М., [1]Сибірна Н.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ОКСИДУ АЗОТУ НА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ КЛІТИН МЕЛАНОМИ SK-MEL-28 ЗА УМОВИ ДЕФІЦИТУ СУБСТРАТУ NO-СИНТАЗ L-АРГІНІНУ

[1]Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
olday_87@mail.ru
[2]Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна,
marina_barska@yahoo.com.

Протипухлинна ензимотерапія на основі голодування за аргініном є потенційно селективною, відносно малотоксичною та може слугувати основою для розробки комбінаційних терапій. Проте в організмі людини дефіцит аргініну викликає небезпеку вазоконстрикції через недостатню кількість вазодилататора й дезагреганта тромбоцитів - оксиду азоту. Поряд із тим, оксид азоту може одночасно виступати ініціатором проліферації клітин і проапоптичним фактором. Тому доклінічне дослідження впливу компенсації дефіциту оксиду азоту при голодуванні за аргініном на фенотип злоякісних клітин, включаючи їх здатність до адгезії, росту та апоптозу, є актуальним (Wheatley D.N.,2005).

Активність синтаз оксиду азоту і аргінази II у лізатах клітин SK-MEL-28 була достовірно вищою на повному середовищі культивування, ніж на середовищі без аргініну. Встановлено достовірне пригнічення активності аргінази II в лізатах клітин SK-MEL-28 під впливом донора оксиду азоту SNP (0,1mM) на середовищі без аргініну, що може пригнічувати синтез поліамінів, необхідних для злоякісної проліферації клітин.

У присутності модуляторів активності синтаз оксиду азоту, а також при додаванні донора оксиду азоту нітропрусиду натрію не спостерігалося достовірних змін у життєздатності клітин SK-MEL-28 протягом 96-годинної інкубації на середовищі без аргініну (Li H,2001).

Відомо, що взаємодія інтегринів з позаклітинним матриксом ініціює запуск внутрішньоклітинного сигналювання до проліферації та диференціації клітин. Зокрема, інтегрин-опосередкована активація фосфатидилінозитол-3-кінази (PI3K) та протеїнкінази B/Akt запобігає аноікозу, а інгібування цих ферментів спричиняє індукцію останнього (Legate K.R.,2009). У клітинах SK-MEL-28 як на повному, так і на безаргініновому середовищі методом вестерн-блот-аналізу виявлено високу експресію регуляторної субодиниці PI3-кінази p85α (Martin-Berenjeno I.,2009). На 24-ту годину інкубації за умови впливу екзо- та ендогенного NO не виявлено фрагментації ДНК та розщепленої форми PARP у лізатах клітин SK-MEL-28 як на повному, так і на безаргініновому середовищах. Проте, імуно- та лектиноцитохімічними методами у режимі флуоресцентної мікроскопії встановлено зниження експресії αvβ3 інтегрину та зменшення кількості сіаловмісних глікопротеїнів плазматичної мембрани клітин досліджуваної меланоми на середовищі без аргініну та за впливу екзо- й ендогенного оксиду азоту.

Отже, дефіцит оксиду азоту, зумовлений голодуванням за аргініном, можна компенсувати донорами оксиду азоту, оскільки на вільному від аргініну середовищі відбувається втрата адгезивності клітин, що підвищує ймовірність активації апоптозу шляхом аноікозу, індукованого відокремленням клітин від субстрату. Крім того, життєздатність клітин SK-MEL-28 як у присутності інгібіторів/активаторів синтаз оксиду азоту, так і при додаванні донора оксиду азоту за відсутності аргініну в середовищі культивування, не зазнавала позитивних змін.

Череватов О., Волков Р.

5S рДНК ПОСЛІДОВНІСТЬ *SATYRUS DRYAS* (SCOPOLI, 1763)

Чернівецький національний університет імені Ю. Федьковича
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна
cherevatv-alex@rambler.ru

В силу складності роботи з ядерним геномом рибосомальні гени комах залишаються мало дослідженими. Зокрема це стосується і лускокрилих, де рибосомальні гени, а серед них і 5S, досліджені лише у *Bombyx mori* Linnaeus, 1758. Тому мета наших досліджень полягала у вивченні структури 5S рДНК лускокрилих.

Матеріалом для досліджень 5S рДНК був помірно палеарктичний вид *Satyrus dryas* (Scopoli, 1763), що належить до космополітної родини Nymphalidae. Для ампліфікації повто-

рюваної ділянки 5S рДНК методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) використовували пару праймерів RV0803 та RV0804, які є комплементарними до послідовності 5S рРНК *B. mori*, що присутня у базі даних Genbank (Altschul et al, 1997). Отримані ПЛР-продукти клонували у бактеріальний вектор. Відібрані рекомбінантні клони сиквенували на сиквенаторі ABI Prism 310 ("PE Applied Biosystems", США). Первинну обробку та аналіз отриманої первинної нуклеотидної послідовності проводили за допомогою комп'ютерної програми Chromas та пакету програм комп'ютерної обробки даних DNASTAR (1998).

Нами було проведено порівняння отриманої ділянки із послідовностями всесвітньої бази даних Genbank. Порівняння МГС *S. dryas* з МГС *B. mori* виявило практично повну відсутність подібності між цими двома послідовностями. Проте пошук проведений у базі даних Genbank із використанням програми BLAST показав, що в межах МГС *S. dryas* присутні два елементи - El1 та El2 які демонструють подібність у 65-80% та 80-88% із декількома послідовностями ДНК з геномів метеликів, що належать до різних родин ряду лускокрилих (*Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796); *Colias eurytheme* (Boisduval), 1852; *Limatria dispar* (Linnaeus, 1759), *Heliothis virescens* (Vinson, 1971); *Hyalophora cecropia* (Linnaeus, 1758) та ін.). Області, що гомологічні до отриманої нами послідовності, у перелічених видів, знаходяться в некодуючих ділянках (промоторах, інтронах, 3' нетрансльованих зонах) різних генів, що кодують білки, у міжгенних районах або у фланкуючих зонах мікросателітних послідовностей.

Ділянки генів, які виявлені у всесвітній базі даних і проявляють подібність із нашою послідовністю, умовно діляться на дві групи. До першої групи належать фрагменти різних генів, із довжинами від 46 до 239 пн, які перекриваються між собою в межах найдовшої з цих послідовностей (*O. nubilalis, H. cecropia, Euphidrias aurinia*). Друга група ділянок, гомологічних до послідовності, що аналізувалась нами, в загальному перекриває лише 95 пн. Тут знаходиться основна маса знайдених в генбанку фрагментів генів представників різних видів (*Choristoneura fumiferana, Lymantria dispar, Choristoneura occidentalis, Heliothis virescens, Cydia pomonella, Choristoneura fumiferana, Colias eurytheme* та ін.). Наявність інсерційних елементів в МГС *S. dryas* та їх висока гомологія із різними ділянками геному лускокрилих, що не пов'язані з 5S рДНК, може свідчити про активну еволюцію даних генів, та участь у ній рухливих генетичних елементів. Оскільки сиквенований нами варіант МГС має незвичайно великий розмір у порівнянні з МГС інших лускокрилих, може постати питання про функціональність такого гена. Оскільки при проведенні ПЛР з ДНК *S. dryas* утворювались лише два продукти з довжинами близько 100 та 1000 пн, менший з яких є ампліфікатом псевдогенів, то слід вважати, що кодування 5S рРНК мають забезпечувати саме ділянки, які містять МГС великої довжини. Отже, поява протягом еволюції у складі МГС послідовностей El1 та El2 не порушила функціональну активність 5S рДНК у *S. dryas.*

Череватов О., Іванович Я., Волков Р.

ВАРІАНТИ 5S РДНК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ ДЕЯКИХ ВИДІВ ЛУСКОКРИЛИХ

Чернівецький національний університет імені Ю. Федьковича
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна
cherevatv-alex@rambler.ru

До тандемно повторюваних послідовностей належать рибосомальні гени (рДНК), які використовують як філогенетичний інструмент уже більше двох десятиліть. Їх використання в цій якості визначається не лише функціональним значенням, але і різною швидкістю еволюції різних ділянок цих генів (Grechko, 2002).

Метою наших досліджень було дослідити ділянку 5S рДНК у метеликів різних родин (*Satyridae, Nymphalidae, Lycaenidae*), яка могла б слугувати в якості маркерної послідовності для детальнішого вивчення таксономії лускокрилих та проведення їх порівняння з 5S рДНК *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758)*, Samia cynthia* (Drury, 1773) та *Antheraea pernyi* (Guérin-Méneville, 1855), що були взяті з бази даних Genbank

Загальну ДНК екстрагували з тіла метелика згідно стандартного протоколу. В якості детергента при виділенні ДНК використовували додецилсульфат натрію. Полімерність ДНК перевіряли за допомогою електрофорезу в 2% агарозному гелі. Для ампліфікації повторюваної ділянки 5S рДНК методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) використовували пару праймерів RV0803 та RV0804, які є комплементарними до послідовності 5S рРНК *B. mori*, що

присутня у базі даних Genbank. Нами було клоновано та сиквеновано нуклеотидні послідовності 5S рДНК видів *Satyrus drias* (Scopoli, 1763), *Melitaea trivia* ([Denis & Schiffermüller], 1775), *M. britomartis* (Assman, 1848) та *Polyommatus icarus* (Rottemburg, 1775) (зразки №1, №5), *P. semiargus* (Rottemburg, 1775), *P. eroides* (Frivaldszky, 1835). Первинну обробку та аналіз отриманої первинної нуклеотидної послідовності проводили за допомогою комп'ютерної програми Chromas та пакету програм комп'ютерної обробки даних DNASTAR (1998).

Аналіз повторюваної нуклеотидної ділянки показав, що у метеликів в залежності від наявності специфічних точкових мутацій можна виділити два класи 5S рДНК послідовностей. Особливо чітко, клас до якого належить отримана нуклеотидна послідовність, визначається при порівнянні кодуючих ділянок 5S рДНК. В геномі *P. icarus* було одночасно виявлено два варіанта 5S рДНК. Різні варіанти знайдено нами і серед послідовностей *B. mori*, які наявні в генбанку. Це свідчить про те, що два класи 5S рДНК імовірно виникли на ранніх етапах еволюції лускокрилих, до дивергенції *B. mori* (надродина Bombycoidea) та *P. icarus* (надродина Papilionoidea). З літератури відомо, що у вищих рослин в геномі можуть бути присутні кілька класів 5S рРНК генів з різною хромосомною локалізацією, які ефективно експресуються. Наявність одночасно кількох класів 5S рРНК генів у тварин виявлені у *Mus musculus* та *Xenopus borealis* (Hitoshi et al., 1994). Цікаво, що у *X. borealis* експресія різних класів 5S рРНК генів диференційно регулюється в онтогенезі.

Чумак В.[1], Панчук Р.[2]

ДОСЛІДЖЕННЯ ШЛЯХІВ ІНДУКЦІЇ АПОПТОЗУ У ЗЛОЯКІСНИХ КЛІТИНАХ ЗА ДІЇ НОВИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ СПОЛУК РОДИНИ 4-ТІАЗОЛІДОНІВ

1 – Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
2 – Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна
virus_t4@ukr.net

Створення нових ліків, здатних вибірково знищувати пухлинні клітини, є актуальним завданням сучасної фармакології та онкології. Гетероциклічні сполуки тіазолової та тіазолідонової будови є новим класом біологічно активних речовин, які володіють широким спектром активності, включно з антимікробною, протизапальною та протипухлинною.

Похідні 4-тіазолідону Les-3120, Les-3166 та Les-3372, синтезовані у лабораторії професора Р.Б. Лесика на кафедрі фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, зарекомендували себе як перспективні антинеопластичні агенти, що було підтверджено в Національному Інституті Раку (Бетезда, США). Однак механізми, які лежать в основі їх протипухлинної активності, досі залишаються нез'ясованими.

Основною метою нашої роботи було дослідити молекулярні шляхи індукції клітинної смерті цими сполуками на лейкемічних і карциномних лініях злоякісних клітин людини і миші *in vitro*. Показник IC_{50} (концентрація антинеопластичного агента, при якій гине 50% клітин) усіх трьох досліджуваних препаратів родини 4-тіазолідонів на різних лініях злоякісних клітин коливається в діапазоні 10^{-5}–10^{-7} М, що є співставним з IC_{50} інших протипухлинних препаратів, які широко застосовуються в клініці (вінкристин, цисплатин та ін).

За допомогою електрофорезу ДНК в 1% гелі агарози, цитоморфологічного дослідження ультраструктури хроматину клітин шляхом фарбування з барвником DAPI та подвійного мічення клітин анексином V та пропідій йодидом було показано, що всі досліджувані похідні 4-тіазолідону індукують апоптоз у клітинах-мішенях.

Для дослідження сигнальних шляхів, задіяних в індукції апоптозу за протипухлинної дії досліджуваних речовин, на клітинах Т-лейкемії людини лінії Jurkat було проведено вестерн-блот–аналіз із використанням специфічних антитіл до білків, задіяних на ранніх і термінальних стадіях апоптозу. Показано, що на 12 годину за дії сполуки Les-3120 спостерігається активація каспази-8 та розщеплення нею білка Bid, що характерне для рецептор-опосередкованого апоптозу. Препарат 3166 призводив до активації каспази-8 та каспази-9, що свідчить про активацію рецептор-індукованого мітохондріально-опосередкованого апоптозу у клітинах-мішенях. У той же час нами не виявлено слідів активації цих білків за дії сполуки 3372, яка має принципово іншу структуру бічних радикалів, однак при цьому спостерігалося суттєве зростання рівня біл-

ка AIF, який задіяний у каспазо незалежних механізмах апоптозу. Таким чином, різна природа бічних ланцюгів 4-тіазолідонів визначає відмінності в молекулярних механізмах індукції апоптозу цими сполуками. Така унікальна особливість похідних 4-тіазолідонів може бути використана для створення новітніх протипухлинних препаратів направленої дії, що дозволить суттєво підвищити ефективність лікування онкологічних хворих.

Шиян М., Кіямова Р.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПУХЛИННИХ АНТИГЕНІВ, ОТРИМАНИХ ЗА МЕТОДОМ SEREX

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

Визначення пухлинних антигенів має величезне значення для діагностики і лікування раку. За інтернет-адресою http://ludwig-sun 5.unil.ch/CancerImmunomeDB/ міститься он-лайн база пухлинних антигенів, отриманих методом SEREX. [Türeci O. et al. Identification of tumor - associated autoantigens with SEREX// Methods Mol Med.-2005.-vol.109.-P.137-54]. База даних SEREX містить 2743 послідовності нуклеотидів, що відповідають 2316 клонам, отриманим з різних пухлинних кДНК бібліотек і групованим у 25 категорій відповідно до типу раку. Усі численні спроби знайти універсальний суперантиген за допомогою методології SEREX не мали успіху. Натомість ідентифіковані тисячі пухлино-асоційованих антигенів, які потребують подальшого вивчення й аналізу для застосування їх в імунотерапії та діагностиці раку. Метою цієї роботи стала обробка бази даних на предмет частоти, з якою кожен антиген зустрічаєтся серед різних кДНК бібліотек, тобто пошук і характеристика найбільш універсальних із них.

При аналізі бази даних виявилося, що деякі антигени характерні для більш ніж одного типу раку : 204 антигени трапляється у двох з 25 типів раку, 67 - у трьох, 45 - у чотирьох, 24 - у п'яти, 7 - у шести, 2 - у семи, 3 (CENPF, LIMS1, RSL1D1) - у восьми, і один антиген (BRAP) трапляється в десяти типах раку.

BRAP (BRCA1 - associated protein) - ген, що кодує протеїн, здатний зв'язуватися з сигналом ядерної локалізації BRCA1 й інших протеїнів, регулює доставку протеїнів у ядро, затримуючи їх у цитоплазмі, бере участь у метаболізмі триптофану, циклі убіквітину, сигнальних шляхах. Взаємодіє з протеїнами BRAP, CENPE, CENPF, FOXM1, TOP3B [Asada M, Ohmi K.et al. Brap2 functions as a cytoplasmic retention protein for p21 during monocyte differentiation// Mol Cell Biol.-2004.-vol.24(18) - P.8236-43].

CENPF (Centromere protein F) - ген, що кодує протеїн, асоційований з центромерно-кінетохорним комплексом, ядерним матриксом, може грати роль у розходженні хромосом під час мітозу, регулює розвиток посмугованої мускулатури, взаємодіє з протеїнами BRAP, CENPE, CENPF, FOXM1, TOP3B [Feng J, Huang H, Yen TJ. CENP - F is a novel microtubule - binding protein that is essential for kinetochore attachments and affects the duration of the mitotic checkpoint delay// Chromosoma.-2006.-vol. 115(4) - P.320-9]. Показана взаємодія протеїнів BRAP і CENPF з утворенням комплексу, що відповідає за цитоплазматичну локалізацію його компонентів і інших протеїнів, регуляцію ядерного транспорту [Li S, Ku CY et al., Identification of a novel cytoplasmic protein that specifically binds to nuclear localization signal motifs// J Biol Chem.-1998 - vol. 273(11) - P.6183-9].

LIMS1 (LIM and senescent cell antigen - like domains 1) - ген, що кодує протеїн, залучений у сигнальні шляхи інтегринів і ростових факторів, знайдений у фокальних адгезивних контактах [Xu Z, Fukuda T. et al., Molecular dissection of PINCH - 1 reveals a mechanism of coupling and uncoupling of cell shape modulation and survival// J Biol Chem.-2005.-vol.280.-P.27631-7]. RSL1D1 (ribosomal L1 domain containing 1 - ген, що кодує протеїн, регулятор трансляції, локалізований у багатьох компартментах (ядро, цитоплазма, рибосоми) [Kim JE, et al. Global phosphoproteome of HT - 29 human colon adenocarcinoma cells// J Proteome Res.-2005.-vol.4(4) - P.1339-46].

Таким чином, із результатів проведеної роботи видно, що деякі антигени повторюються з досить високою частотою, і це свідчить про невипадковий характер їх виявлення, підтвердженням чого є взаємодія BRAP і CENPF. Подібна характеристика антигенів бази даних SEREX допомагає пролити світло на молекулярні механізми розвитку ракових захворювань; вичленувати глобальні взаємодії в основі злоякісних переродженнь, відсіявши випадкові варіації; вказує на найбільш перспективні для подальших досліджень антигени, на основі яких дасть змогу створити системи діагностики, прогнозування і лікування раку.

Шкандіна Т.[1,2], Томін А.[2], Стойка Р.[1,2], Білий Р.[2]

ЗВ'ЯЗУВАННЯ СІАЛОСПЕЦИФІЧНИХ ЛЕКТИНІВ ІЗ АПОПТИЧНИМИ КЛІТИНАМИ

[1]Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
[2]Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005
tanjusha89@ukr.net

Глікокалікс огортає поверхню усіх еукаріотичних клітин і забезпечує контакт клітини з її оточенням, обумовлює міжклітинні взаємодії та опосередковує контакт клітини з патогенними чинниками. Майже усі глікопротеїни глікокаліксу містять на термінальних кінцях сіалові кислоти, з'єднані різними зв'язками (серед них α2,3– та α2,6–). Тож саме сіалові кислоти є відповідальними за більшість реакцій розпізнавання, що відбуваються на поверхні клітини.

Метою роботи було дослідити зміни інтенсивності зв'язування сіалоспецифічних лектинів із поверхнями апоптичних клітин, порівняно з інтактними.

У даній роботі ми використали ряд сіалоспецифічних лектинів (*Sambucus nigra, Maackia amurensis*, *Cepaeae nemoralis*, *Limax flavus* та *Limax sp*., *Limulus polyphemus*), які очистили, кон'югували з флуоресцентними маркерами (флуоресцеїнізотіоціанатом і техаським червоним) і біотином та визначили рівень різних сіалілвмісних глікокон'югатів на поверхні клітин лінії Jurkat за умов апоптозу.

Флуоресцентною мікроскопією показано зменшення зв'язування усіх досліджуваних сіалоспецифічних лектинів із апоптичними клітинами, порівняно з інтактними клітинами. Лектини виявляли гомогенне зв'язування з поверхнею клітин.

За допомогою проточної цитофлуориметрії проведено кількісну оцінку зміни сіалільних залишків при апоптозі. На апоптичних клітинах відбувається зменшення експонування сіалоспецифічних залишків, що зв`язуються лектинами бузини чорної (*Sambucus nigra*), акації амурської (*Maackia amurensis*), равлика деревного (*Cepaeae nemoralis*), слизня жовтуватого (*Limax flavus*), мечохвоста атлантичного (*Limulus polyphemus*) та збільшення сіалільних залишків, що розпізнаються сіалоспецифічним лектином *Limax sp*.

Отже, нами показано, що за умов апоптозу на поверхні апоптичних клітин лінії Jurkat зменшується рівень як α2,3–, так і α2,6–сіалілвмісних гліканів, відбувається демаскування і збільшується кількість доступних до зв`язування сіалільних залишків О–гліканів.

Шляхтіна Є., Сеньків Ю., Москвін М., Стойка Р.

ДІЯ ПРОТИПУХЛИННИХ ПРЕПАРАТІВ, ДОСТАВЛЕНИХ У РАКОВІ КЛІТИНИ ЗА ДОПОМОГОЮ НОВІТНІХ ПОЛІМЕРНИХ НАНОНОСІЇВ *IN VITRO* ТА *IN VIVO*

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
lisaschliakhtina@gmail.com

Більшість сучасних протипухлинних препаратів, що застосовуються у клініці, володіють значною токсичністю, поширюються в організмі неспецифічно і зумовлюють розвиток різноманітних побічних ефектів, пошкоджуючи як ракові, так і здорові клітини. Велика кількість нових протиракових агентів є погано розчинними у воді та у зв'язку з цим мають низьку ефективність і специфічність дії. Зважаючи на вищесказане, розвиток досліджень у напрямі створення нових ефективних систем доставки протипухлинних препаратів займає передове місце у сучасній експериментальній онкології.

Новизна проведених нами досліджень ґрунтується на використанні олігоелектролітів керованої структури. Вони можуть не лише іммобілізувати як розчинні, так і водонерозчинні сполуки і токсичні протиракові ліки, але також забезпечувати їм водорозчинність, можливість накопичуватись у пухлинах і здатність убивати ракові клітини, резистентні до їх дії.

Основними завданнями нашої роботи було: 1) застосування розроблених матеріалів для доставки препаратів до клітин пухлин тварин і людини; 2) дослідження пригнічення росту й індукції загибелі пухлинних клітин; 3) підтвердження на молекулярному і клітинному рівнях ефективності створених систем доставки до специфічних клітин-мішеней.

Синтез олігомерних носіїв був здійснений на кафедрі органічної хімії Національного університету «Львівська Політехніка».

Одержані нами результати показують, що дія доксорубіцину, іммобілізованого на олігомерних наноносіях Т14 у модифікаціях ТМ3 і ТМ3(17), призводила до зменшення відносного приросту клітин гострого лейкозу мишей L1210 і трансформованих мишачих фібробластів L929, аналогічного до дії чистого доксорубіцину у концентраціях, на порядок більших.

Також були проведені дослідження ефективності дії таких комплексів *in vivo*. Введення мишам із прищепленою пухлиною – лімфомою NK/Ly препарату доксорубіцину, іммобілізованого на олігомерному наноносії у концентраціях 0,1 мг/кг ваги тварини, мало ефект, аналогічний тому, що був досягнений при введенні чистого доксорубіцину у концентрації 1 мг/кг ваги. Миші при такому лікуванні залишалися живими, зупинявся ріст пухлини і не спостерігалося зниження ваги тварин у кінці лікування внаслідок токсичної дії доксорубіцину.

Це свідчить, що досліджувані олігомери є перспективними як носії протипухлинних препаратів. Їх використання для доставки протиракових препаратів дає можливість застосовувати ліки у дозах, значно менших від терапевтичних, і з збереженням протипухлинного ефекту. Результатом використання цих носіїв для доставки ліків може бути суттєве зменшення побічних ефектів при хіміотерапії пухлин. Подальше вдосконалення досліджуваних наноносіїв дозволить використовувати їх для доставки інших протипухлинних препаратів, а також для цільової доставки ліків безпосередньо у пухлинні клітини. Механізми посиленого протипухлинного ефекту препаратів, іммобілізованих на цих носіях, досліджуються.

Робота виконана за підтримки гранта УНТЦ № 4953.

Guschinskaya N.

CONSTRUCTION OF AGROBACTERIAL VECTOR WITH GENE ENCODING TOLERANCE TO GLYPHOSATE

The Faculty of Biology, Belarussian State University
4, Nezavisimosty Ave., 220030, Minsk, Belarus
guschinskayann@gmail.com

Glyphosate is a broad-spectrum herbicide that blocks plant growth by inhibiting 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate (EPSP) synthase (AroA). EPSP is a key enzyme involved in aromatic amino acid biosynthesis. It catalyzes an unusual reaction between shikimate-3-phosphate (S3P) and phosphoenolpyruvate (PEP) with transfer of the carboxyvinyl moiety from PEP to S3P to form EPSP and inorganic phosphate.

EPSP synthase is an attractive target for herbicides since this pathway is absent from mammals. Glyphosate, the world's most used herbicide, is a massive success because it enables efficient weed control with minimal animal, human and environmental toxicity.

The only economic advantage of using this herbicide is when there are agricultural crops with tolerance to glyphosate.

One of the approaches to create transgenic plants with tolerance to glyphosate is to introduce glyphosate-insensitive form of bacterial enzyme. We used two variants of bacterial genes *aroA* from *Escherichia coli* and *Erwinia chrysanthemi* and we used site-directed mutagenesis to create genes with aminoacid substitutions that described in literature as tolerance increaser of EPSPS to glyphosate. After that we used some variations of mutant genes in the reaction of recombination-mutagenesis *in vitro*, we chose variants of genes with 20-fold lower sensivity to glyphosate.

Levels of resistance to glyphosate were analysed using microbiological test on media with additional different concentrations of glyphosate.

The plasmid harboring *aroA* gene with the lowest sensitivity to glyphosate was used for construction agrobacterial vector on base of pBI121. For this purpose the chloroplast signal peptide from *Nicotiana tabacum* (CTP) was cloned upstream *aroA* gene. This vector was introduced in *Nicotiana tabacum* plants. The characteristics of transgenic plants are being studied now.

Prisyazhnenko O., Evtushenkov A.

TOBACCO PLANTS TRANSGENIC IN *ERWINIA CAROTOVORA* HARPIN HRPN GENE ARE LESS SENSITIVE TO INFECTION WITH *BOTRYTIS CINEREA* AND *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* THEN UNTRANSGENIC PLANTS

Molecular Biology Department, Belarusian State University
Nezavisimosty Ave., 4, BSU, The Faculty of Biology, 220030, Minsk
olga.prisya@gmail.com

Previously in our laboratory tobacco plants transgenic in *Erwinia carotovora* harpin HrpN gene ($hrpN_{Ec}$) were constructed. This protein has a high sequence homology with HrpN harpin form *Erwinia amylovora* ($HrpN_{Ea}$). When $HprN_{Ea}$ is sprayed onto the foliage and stems of a plant, it stimulates the salicylic acid–dependent pathway, the jasmonic acid–induced pathway (involved in plant defense) and plant growth systems, including enhanced nutrient uptake and increased net photosynthesis. In this work we investigated transgenic plants reaction to fungi infection (*Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*). In result transgenic plants were less sensitive to this kind of infection. First signs of disease appeared later than on the control plants and level of pathogen expansion was lower. After defining the level of the $hrpN_{Ec}$ expression it appeared, that it correlates with the level of resistance of transgenic plants. This fact gives as an opportunity to assume, that endogenous expression of $hrpN_{Ec}$ elevates plant's resistance to fungi pathogens (*Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*).

Sharay O.

CHARACTERIZATION OF CELLULASE GENE OF *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM*

Molecular biology, Belarusian State University
10, Kurchatova St., Minsk, 220030, Belarus
oliagg@bk.ru

Phytopathogenic bacteria *Pectobacterium carotovorum* cause considerable amount of harm to potato plants, causing a blackleg disease (disease which results in plant's death soon after its the tubers germinate) as well as soft rot of the tubers during storage. When this bacteria infect the plant they start to produce several hydrolytic enzymes, which destroy plant's cellular wall. The main virulence factors for *Pectobacterium* are considered to be the extracellular pectate lyase, cellulase and protease. Most of current researches are directed towards studying the contribution of pectolytic and proteolytic enzymes to *P. carotovorum* bacteria virulence. Nevertheless the influence of such virulence factor as cellulase is studied rather bad.

The molecules of cellulase are composed of a carbohydrate binding domain at the C-terminal joined by a short poly-linker region to the catalytic domain at the N-terminal.

To estimate the role of cellulase gene in *Pectobacterium carotovorum* 3-2 bacteria virulence during the first phase of the research we have constructed a mutant strain by *celV* gene (which codes endoglucanase of family 5). With the help of plate tests and standard reaction on regenerative sugars a complete absence of cellulolytic activity was detected in the cells of mutant strain.

During the next phase of the research the tubers and stems of potato were infected by suspensions of *P. carotovorum* cells of mutant strains by *celV* gene, as well as suspensions of wild-type strains cells for a control. The results received have shown that there is no significant difference between mutant and wild-type strain of *P. carotovorum* virulence. Such phenotype of mutant strains can be caused by the fact that the product of mutant gene (*celV*) is not required for successful colonization of the plant by *P. carotovorum* 3-2 bacteria. Considering that usually several cellulase genes are present in *Pectobacterium* genome (e.g. 4 cellulase genes are annotated in *P. atrosepticum* SCRI1043 strain genome), possibility of involvement of minor cellulose (possibly induced during contact with the plant) in disease symptom development caused by *P. carotovorum* 3-2 bacteria cannot be eliminated.

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН / PLANTS PHYSIOLOGY

Бакун В., Пацула О., Терек О.

ВПЛИВ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ І ТРЕПТОЛЕМУ НА ВМІСТ ПЕРОКСИДУ ВОДНЮ У РОСЛИН РІПАКУ ТА СОНЯШНИКУ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
biofr@franko.lviv.ua

Одним із типів пошкодження, спричинених важкими металами, є оксидативний стрес. Під час цього стресу, зокрема, утворюється супероксид аніону, який надалі призводить до продукування гідроксильних радикалів і пероксиду водню. Такі процеси провокують відповідь антиоксидантних систем. Пероксид водню є сигналом для активації захисних систем, активатором експресії генів і активатором процесів, що призводить до стійкості у рослин (Пацула, Демків, 2003).

Одним із ефектів дії пероксиду водню на рослинні тканини може бути активація ПОЛ, насамперед ненасичених жирних кислот плазматичної мембрани (Гамалей, Клюбин, 1996). Зростання інтенсивності ПОЛ може спричинювати розвиток пошкоджень клітин. Водночас останніми роками з'являються відомості про сигнальні функції як АФК, так і продуктів ПОЛ, тобто у певних межах посилення утворення АФК і активація ПОЛ можуть бути фізіологічно доцільними процесами (Колупаєв, Карпець, 2007).

Пероксид водню як сигнальна молекула регулює експресію генів і програмовану смерть клітини. Такі АФК, як пероксид водню, супероксидний аніон-радикал, гідроксильний радикал, залучаються як ранні молекули-месенджери в передачі сигналів, активізованих декількома стимулами. H_2O_2 служить як сигнальна молекула на різні абіотичні стреси, в акліматизації до фотооксидів і у взаємодії рослина-патоген (Riikka I. Pellinen et al., 2002).

Відомо, що регулятори росту рослин, створені в Інституті нафтохімії та біоорганічної хімії НАН України, позитивно впливають на ріст сільськогосподарських культур (Пономаренко, 2001). Одним із таких сучасних регуляторів є трептолем – комплекс 2,6-диметилпіридин-l-оксид з бурштиновою кислотою – 50 г/л та Емістиму С – 1,0 г/л (ІБОНХ НАНУ, МНТЦ «Агробіотех», ЗАТ «Високий урожай») (Грицаєнко та ін., 2008).

Метою нашої роботи було з'ясувати роль трептолему в адаптації рослин до токсичної дії іонів важких металів. Для досягнення мети ми експериментально визначали характер впливу трептолему на вміст пероксиду водню у рослин ріпаку та соняшнику в умовах дії іонів цинку та міді.

Досліди проводили на проростках ріпаку *(Brassica napus)* сорту Микитинецький та соняшнику (*Helianthus annuus*) сорту Еліт. Насіння пророщували протягом 3 діб у чашках Петрі на зволоженому трептолемом у концентрації 1 мл/л фільтрувальному папері. Після цього проростки пересаджували на водні розчини цинк (10^{-3}М і 10^{-4}М) і купрум (10^{-5}М і 10^{-6}М) сульфатів. Контролем слугували рослини, вирощені на дистильованій воді. Через 7 і 14 діб у дослідних та контрольних рослин визначали вміст пероксиду водню (Di Toppi S. et al., 1999).

Виявлено, що за дії іонів важких металів відбувається нагромадження пероксиду водню, який за надлишку, як відомо, негативно впливає на білки і ліпіди мембран та призводить до пошкоджень ДНК. Трептолем виявляє захисний ефект проти токсичних іонів цинку та міді, що простежується у зменшенні вмісту пероксиду водню в рослинах ріпаку та соняшнику.

Можна припустити, що трептолем запускає механізми захисту рослин, чим і зменшує негативний вплив АФК. Основним механізмом захисту є активація антиоксидантів. Зменшення рівня пероксиду водню можна пояснити підвищенням активності ферментів антиоксидантного захисту, а саме СОД, каталази і пероксидази.

Отже, пероксид водню виступає як індуктор стресової реакції, який регулює роботу ферментів-протекторів та запускає розвиток стрес-реакції у рослинному організмі.

Хоча з АФК пов'язують в основному пошкоджуючі ефекти, вони також беруть участь у захисті рослин, діючи як сигнальні молекули. Вважається, що збільшене продукування АФК за несприятливих умов існування є загальним сигналом тривоги, який вказує на необхідність модифікації генної експресії та метаболізму клітин за даних умов. У якості сигнальної молекули насамперед розглядається пероксид водню, який відіграє значну роль в індукції експресії генів білків, пов'язаних зі стійкістю до стресу (Таран та ін., 2004).

Бойко І., Кобилецька М., Терек О.

ВПЛИВ САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ НА МІЦНІСТЬ ЗВ'ЯЗКУ ХЛОРОФІЛУ З БІЛКОВО-ЛІПІДНИМ КОМПЛЕКСОМ ЗА УМОВ КАДМІЄВОГО СТРЕСУ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
irynka.bojko@gmail.com

Важкі метали є високотоксичними для рослин, вони легко проникають і накопичуються в рослинному організмі, викликаючи різноманітні ушкодження. Кадмій вважається одним із найагресивніших серед важких металів. Основними джерелами забруднення ґрунтів кадмієм є індустріальна промисловість, автомобільні викиди та добрива з домішками важких металів. Існують різні механізми детоксикації іонів важких металів у рослинному організмі. Одні з них спрямовані на формування комплексів і компартменталізації іонів важких металів, інші пов'язані з нейтралізацією пошкоджень, спричинених стресором, за участю стресових сигнальних систем.

Саліцилова кислота відома як сполука, що бере участь у формуванні стійкості рослин до дії біотичних і абіотичних стресів. Обробка рослин саліциловою кислотою зумовлює зміни у рослинному метаболізмі, що веде до підвищення адаптивних можливостей організму. Саліцилову кислоту вважають потенційною сигнальною молекулою, яка здатна впливати на антиоксидантну систему, фотосинтетичні процеси, мінеральне живлення та інші фізіолого-біохімічні процеси у рослинному організмі.

Фотосинтетичний апарат рослин є дуже чутливим до дії іонів важких металів. У присутності іонів кадмію спостерігається деструкція хлоропластів, руйнування пігментної системи, інактивація фотосинтетичних пігментів. Вважають, що саліцилова кислота володіє протекторними властивостями щодо фотосинтетичного апарату рослин (Popova, 1996; Hayat, 2010).

Метою даної роботи було дослідити вплив саліцилової кислоти на міцність зв'язку хлорофілу з білково-ліпідним комплексом у присутності іонів кадмію. Об'єктом дослідження були 28-добові рослини пшениці сорту Подолянка, вирощені методом піщаної культури із додаванням кадмію хлориду в концентрації 25 мг/кг. Обробка саліциловою кислотою (100 та 500 мкМ) здійснювалася двома шляхами: обприскування рослин на 7-му добу росту та передпосівне замочування насіння протягом 5 год. Міцність зв'язку хлорофілу з білково-ліпідним комплексом оцінювали на основі екстракції хлорофілу полярними та неполярними розчинниками (Починок, 1976; Мусієнко, 2001). Екстракція хлорофілу неполярними розчинниками відбувається лише після денатурації хлорофіл-білкових комплексів. Екстракцію пігментів проводили бензином із різним вмістом етанолу (0,2; 0,4; 0,8 та 1,2%), вивчаючи таким чином ступінь денатурації міцніших і слабших хлорофіл-білкових комплексів.

Результати експериментів показали, що присутність іонів кадмію у середовищі зростання рослин веде до зменшення міцності зв'язку хлорофілу з білково-ліпідним комплексом у обох фракціях. Обробка рослин саліциловою кислотою шляхом обприскування в обох концентраціях підсилювала міцність зв'язку хлорофілу з білково-ліпідним комплексом, що виразніше спостерігалося у фракції слабших хлорофіл-білкових комплексів. Передпосівна обробка саліцилатом шляхом замочування насіння виявила протекторну роль для фракції міцніших хлорофіл-білкових комплексів, причому саліцилова кислота у концентрації 100 мкМ виявила сильніший ефект.

При дослідженні впливу саліцилової кислоти на рослини у відсутності стресора виявлено зростання міцності зв'язку хлорофілу з білково-ліпідним комплексом відносно контролю у фракції слабших хлорофіл-білкових комплексів.

Отримані нами дані свідчать про протекторну роль саліцилової кислоти у збереженні нативності організації хлорофіл-білкових комплексів за токсичної дії іонів кадмію та покращення стану пігментної системи за нормальних умов.

Борис Й., Пацула О.

ОКСИДАНТНІ ПОШКОДЖЕННЯ ПІГМЕНТНОЇ СИСТЕМИ РОСЛИН КУКУРУДЗИ ЗА ДІЇ ІОНІВ СВИНЦЮ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, 79005, м. Львів, Україна
biofr@franko.lviv.ua

Серед найагресивніших забруднювачів довкілля, які згубно впливають на біосферу, є іони важких металів. Системна шкідлива дія іонів важких металів з року в рік посилюється, оскільки вони можуть істотно знижувати природну стійкість біологічних об'єктів до біотичних і абіотичних чинників середовища внаслідок розширення сфери господарської діяльності і збільшення антропогенного тиску. До найнебезпечніших забруднювачів біосфери належить свинець, оскільки він має довготривалий характер дії. Тому метою наших досліджень було встановити стійкості рослин кукурудзи на основі вивчення вмісту фотосинтетичних пігментів за дії іонів свинцю різних концентрацій.

Дослідження проводили із рослинами кукурудзи (*Zea mays*) сорту Піракокс середньопізній. Насіння стерилізували у слабкому розчині марганцевокислого калію протягом 15 хв і промивали дистильованою водою. Насіння пророщували протягом 3 діб у чашках Петрі на зволоженому водою фільтрувальному папері в темному термостаті за температури +24ºС. Після цього проростки пересаджували на водні розчини ацетату свинцю у концентрації 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} . Контролем слугували рослини, вирощені на середовищі Холанда–Арнона. Через 7 і 14 діб у дослідних і контрольних рослин визначали довжину коренів та пагонів, вміст фотосинтетичних пігментів.

Морфофізіологічним методом оцінили реакцію цілої рослини кукурудзи на дію іонів свинцю, а також встановили послідовність змін, які відбуваються в рослинах зі збільшенням концентрації іонів свинцю у водному розчині. В умовах забруднення середовища іонами свинцю іде відмирання кінчиків коренів, зменшується кількість і довжина кореневих волосків, корені витоншуються. При вимірюванні вмісту хлорофілів *a* та *b* у листках кукурудзи ми спостерігали зменшення вмісту хлорофілів відповідно до збільшення концентрації металу у розчинах. Визначили, що вміст хлорофілу *b* є значно нижчим, ніж хлорофілу *a*. Вміст каротиноїдів кукурудзи в умовах забруднення середовища важкими металами зростає порівняно з контролем.

Отже, дослідження показали, що інгібування росту є одним з найбільш ранніх симптомів негативного впливу іонів свинцю на рослини.

Буньо Л., Цвілинюк О.

ПІГМЕНТНА СИСТЕМА РОСЛИН *CAREX HIRTA L.* ПІД ВПЛИВОМ НАФТИ РІЗНИХ ТЕРМІНІВ ДЕСТРУКЦІЇ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
bioza@ukr.net

Під впливом стресу (нафтове забруднення) відбувається деградація основних фотосинтетичних пігментів у рослин (Немерс, 1991; Мерзляк, 1997). У зв'язку з цим особливий інтерес викликає вивчення впливу нафти саме на пігментний склад рослин. Зміна вмісту і співвідношення фотосинтетичних пігментів служить тестом, який дає змогу оцінити різні дози техногенного впливу на рослини (Воейков, 1987). Характеристика пігментних систем включає в себе кількісне визначення у тканинах рослин хлорофілу a і b, їх суми , а також міцність зв'язку хлорофілу з білком. Тому метою нашої роботи було дослідження стану пігментної системи рослин за умов забруднення ґрунту нафтою.

Дослід було закладено в лабораторних умовах. Рослини *Carex hirta L.* було висаджено у нафтозабруднений ґрунт (50г/кг) зразу після забруднення і через 20 днів після виливу нафти (термін потрібний для вивітрення летких форм нафти). Контролем служив чистий ґрунт. Після 6 місяців росту відбирали листки з верхнього, середнього і нижнього ярусів рослини. Уміст пігментів визначали у свіжозібраних листках після екстракції 100% ацетоном з додаванням $CaCO_3$ на фотоелектроколориметрі при довжинах хвиль 662 нм (хлорофіл а), 644 нм (хлорофіл b). Концентрацію хлорофілів розраховували за формулами Хольм–Веттштейна (Мусієнко, 2001). Показник співвідношення хлорофілів a/b розраховували за методикою Вернон (Бессонова, 1991). Для визначення впливу нафти на організацію пігмент-білкового комплексу використовували метод екстракції 60%-ним ацетоном, що дає змогу виявити характер мікрооточення в мембранах хлоропластів (Власенюк, 1990; Тарасенко,1984).

Вивчення вмісту пігментів у дослідних листках рослин *Carex hirta* засвідчило, що отримані показники відповідали загальним закономірностям, характерним для стану деструкції нафти у момент висаджування рослин, а також віку листка на рослині. Найбільший вміст хлорофілу a і b спостерігався у листках зі середнього ярусу рослини в контрольному варіанті. Найменше його було у листках з рослин, які були висаджені у ґрунт зі свіжовилитою нафтою.

Пошкоджуюча дія нафти на мембрани хлоропластів проявляється у порушенні міцності зв’язку хлорофілу з білком. Найміцніший зв'язок виявлено у молодих листках (верхній ярус) як в контрольних, так і в дослідних рослин. У рослин, висаджених 20 днів після розливу, у 3 рази слабший зв'язок (16,9%) порівняно з контрольними (47,9%). У рослин, висаджених у ґрунт зі свіжовилитою нафтою, ця різниця була ще більшою – у 8 разів (8,8%). При порівнянні середніх листків такої великої розбіжності не спостерігали (у 2–3 рази). У нижніх старіючих листках відсоток міцності хлорофілу з білком у контрольних і дослідних рослин був майже однаковий.

Таким чином, у рослин на ґрунтах, забруднених нафтою з різним терміном деструкції, спостерігається зменшення вмісту пігментів, міцності зв’язку хлорофілу з білком.

Васянович І., Пацула О.

ВПЛИВ ХЛОРИДУ КАДМІЮ НА ПІГМЕНТНУ СИСТЕМУ РОСЛИН РІПАКУ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, 79005, м. Львів, Україна
biofr@franko.lviv.ua

Швидкі зміни умов оточуючого середовища значно випереджають адаптивний потенціал рослинних організмів, а забруднення його важкими металами, внаслідок антропогенної активності, становить не тільки проблему для екології та фізіології рослин, але і загрозу здоров’ю людини. Важкі метали для рослин здебільшого є мікроелементами і в певних кількостях необхідні для перебігу біохімічних і фізіологічних процесів у їхніх організмах. При високих концентраціях цих металів в навколишньому середовищі у рослин також спостерігаються різні порушення росту і розвитку, викликані отруєнням цими металами. У ґрунті такий найбільш поширений важкий метал, як кадмій, проявляє високу мобільність, і тому важливо дослідити вплив цього полютанта на його акумуляцію та ростові показники у сільськогосподарських рослин (Титов та інші,2001).

Об’єктом досліджень були рослини ярого ріпаку (*Brassica napus L.*) сорту Микитинецького. Насіння пророщували протягом 3 діб у чашках Петрі на зволоженій марлі у темному термостаті за температури +24ºС. Після цього проростки пересаджували на водні розчини хлориду кадмію (10^{-5},10^{-6},10^{-7}). Контролем слугували рослини, вирощені на середовищі Холанда–Арнона без додавання хлориду кадмію.

Встановлено, що дія кадмію в низьких концентраціях на проростки ріпаку приводила до зниження кількості хлорофілів у листках, причому вміст хлорофілу b був набагато нижчий, ніж хлорофілу a. У 14-добових рослинах спостерігається зменшення вмісту пігменту, порівнюючи з контролем.

Під дією використаних нами концентрацій солей кадмію виявлено значні зміни у вмісті каротиноїдів у листках ріпаку. Концентрація каротиноїдів помітно збільшувалась у 14-добових рослин. Вміст каротиноїдів в умовах забруднення середовища важкими металами зменшується у нестійких видів та зростає порівняно з контролем у толерантних видів, що пов’язано з захис-

ною і адаптивною функціями каротиноїдів. При цьому змінюється відношення їх окремих форм у зв'язку з різними ступенями впливу важких металів на кожну з них (Бессонова,2006). Це вказує на те, що наш об'єкт досліджень – ріпак – толерантний до впливу важких металів.

Гавданович Ю., Величко О.

ФОРМУВАННЯ БОБОВО-РИЗОБІАЛЬНОГО СИМБІОЗУ СОЇ ТА *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* У НАФТОЗАБРУДНЕНОМУ ҐРУНТІ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005, Україна
biofr@franko.lviv.ua

Забруднення середовища унаслідок техногенної діяльності людини є однією з центральних проблем сьогодення. Поряд з такими поширеними полютантами, як пестициди, важкі метали та ін., небезпечним забруднювачем середовища є нафта та продукти її переробки. Нафтового забруднення зазнають усі компоненти природного середовища, й грунти зокрема. У літературі є відомості, що нафтозабруднений ґрунт є токсичним для низки сільськогосподарських рослин. Метою нашої роботи було з'ясувати вплив нафтового забруднення грунту на ріст цінної білково-олійної культури – сої – з огляду на те, що соя як представник бобових рослин здатна до формування бобово-ризобіального симбіозу з бульбочковими бактеріями, які, згідно з наявними у літературі відомостями, можуть бути також активними деструкторами вуглеводнів нафти у ґрунті.

У результаті проведених досліджень встановлено, що нафтове забруднення ґрунту у високих концентраціях (5 і 8%) чинило негативний вплив на енергію проростання та схожість насіння сої. Так, за наявності 5% нафти у ґрунті проростало 23% насінин, а за наявності 8% – лише 13% насінин. Високий рівень нафти у ґрунті інгібував також наростання вегетативної маси рослин сої.

Оскільки проведеними у попередні роки дослідженнями виявлено, що в умовах нафтозабрудненого ґрунту не відбувалося утворення симбіозу сої з бульбочковими бактеріями, ми дослідили можливість формування бобово-ризобіального симбіозу шляхом внесення у нафтозабруднений ґрунт культури *Bradyrhizobium Japonicum.* Проведеними дослідженнями встановлено появу бульбочок на 26 ± 2 добу росту рослин сої. Бульбочки утворювалися в усіх варіантах забруднення ґрунту нафтою (2, 5 і 8%). При цьому максимальна кількість кореневих бульбочок утворювалась у рослин, вирощених на ґрунті, що містив 2% нафти. З літератури відомо, що невелика кількість вуглеводнів (5 г/100 г грунту) стимулює діяльність мікрофлори, що й узгоджується з отриманими результатами. Проте маса утворених під впливом нафтового забруднення бульбочок була меншою, ніж їх маса у контролі, що свідчить про негативний вплив нафти на наростання маси бульбочок. Негативний вплив може бути пов'язаний з погіршенням водно-повітряного режиму нафтозабрудненого ґрунту, оскільки відомо, що на процес симбіотичної азотфіксації та розподіл кореневих бульбочок у різних горизонтах грунту суттєво впливає ступінь його вологості й аерації.

Таким чином, проведеними дослідженнями встановлено формування бобово-ризобіального симбіозу сої з *B. japonicum* у нафтозабрудненому ґрунті. Утворення кореневих бульбочок може бути позитивним чинником, що сприятиме виживанню рослин сої в умовах нафтозабрудненого ґрунту завдяки додатковому джерелу азотного живлення. А з огляду на можливість бульбочкових бактерій у симбіозах розкладати вуглеводні нафти, рослини сої можуть використовуватися як цінні ремедіанти нафтозабрудненого ґрунту.

Доліба І., Панчук І., Волков Р.

ВПЛИВ РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ ІОНІВ КАДМІЮ НА КАТАЛАЗНУ АКТИВНІСТЬ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Коцюбинського 2, м. Чернівці, 58012, Україна
inna.doliba@gmail.com

Одним із абіотичних стресових факторів є важкі метали (ВМ), які акумулюються в екосистемах переважно внаслідок антропогенної діяльності (Пацула, 2003). Деякі ВМ у низьких концентраціях є необхідними елементами живлення та структурними компонентами рослинної

клітини. Проте кадмій не належить до таких елементів і є токсичним для рослин навіть у низьких концентраціях (Schutzendubel, 2001). Токсична дія ВМ проявляється також у порушенні окисно-відновного балансу клітини, зокрема – у збільшенні рівня активних форм кисню (АФК), що, у свою чергу, призводить до виникнення оксидативного стресу в клітині (Romero-Puertas, 2004). Біологічна роль АФК зумовлюється їхньою здатністю атакувати будь-яку органічну молекулу. Окрім пошкоджуючої дії, АФК можуть виступати в ролі сигнальних молекул. Насамперед, пероксид водню відіграє важливу роль в індукції експресії генів, що кодують антистресові білки (каталази, пероксидази) (Neill, 2002; Panchuk, 2006). Внутрішньоклітинний рівень АФК контролює антиоксидантна система рослин. Зокрема, важливим антиоксидантним ферментом є каталаза, яка розщеплює пероксид водню до води і кисню (Пацула, 2003; Azpilicueta, 2008).

На сьогодні отримано чимало даних стосовно довготривалого впливу на рослини низьких концентрацій ВМ (хронічний стрес). Проте рання фаза стресової відповіді залишається дослідженою недостатньо. Тому ми вирішили зосередити увагу на вивченні змін у клітині, що виникають протягом кількох годин за дії гострого шоку, викликаного порівняно високими концентраціями ВМ. Зокрема, дана робота присвячена вивченню впливу іонів Cd^{2+} на активність каталази арабідопсису.

Для дослідження активності каталази за умов впливу кадмію використовували рослини *A. thaliana* екотипу Columbia 0 віком 4,5-5-тижнів, що росли у ґрунті. Для проведення стресової обробки відокремлювали надземну частину рослин від кореневої системи і місце зрізу занурювали в рідке 0,5x MS, що містило хлорид кадмію у концентраціях 0,1; 0,5 та 5 мМ. Обробку проводили в темряві при температурі 20°С протягом 2 та 12 годин.

Наші дослідження показали, що 2-годинний стрес не викликав суттєвих змін каталазної активності, яка за впливу Cd^{2+} у концентрації 0,1 та 0,5 мМ була практично на рівні контрольних рослин. Лише за дії найвищої концентрації Cd^{2+} (5мМ) відмічено тенденцію до зниження каталазної активності на 10%. Найбільший вплив на каталазну активність іони Cd^{2+} мали в умовах 12-годинного стресу. Зокрема, обробка рослин 0,5 та 5 мМ хлоридом кадмію призводила до статистично вірогідного зниження активності каталази відповідно на 49 та 66% порівняно з контрольними рослинами.

Отже, в умовах швидкого надходження у рослину іони Cd^{2+} викликають зменшення каталазної активності у листках арабідопсису. Імовірним механізмом цього є оксидативне пошкодження молекул ферменту в умовах порушення окисно-відновного балансу у клітині.

Доліба І., Панчук І., Волков Р.

РОЛЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ У СТРЕСОВІЙ ВІДПОВІДІ РОСЛИН ТЮТЮНУ НА ДІЮ ІОНІВ КАДМІЮ

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Коцюбинського 2, м. Чернівці, 58012, Україна
inna.doliba@gmail.com

Останнім часом серед несприятливих стресових факторів довкілля особливу увагу привертають важкі метали (ВМ) (John, 2009). Переважна більшість ВМ у підвищених концентраціях є токсичними для рослин. Найбільш небезпечними є метали, що не належать до групи необхідних рослинам елементів. Представником таких металів є кадмій, який у рослинній клітині взаємодіє зі сульфгідрильними групами білків, що призводить до втрати активності багатьох ферментів та порушення окисно-відновної рівноваги (Das, 1997).

Пошкодження, викликані ВМ, у першу чергу спричинені оксидативним стресом, який є наслідком збільшення внутрішньоклітинних концентрацій активних форм кисню (АФК), зокрема пероксиду водню (Olmos, 2003). Це, у свою чергу, провокує відповідь антиоксидантних ферментів, зокрема пероксидаз і каталази, які знешкоджують пероксид водню в клітині. Відомо, що каталаза та АРХ виконують важливу роль у захисті рослинної клітини за дії абіотичних стресових факторів (Scandalios, 1997; Panchuk, 2002; Sofo, 2005). Проте враховуючи, що роль цих ферментів на ранніх етапах відповіді рослин на гострий стрес, викликаний ВМ, ще

недостатньо з'ясована, дана робота присвячена вивченню впливу іонів кадмію на активність каталази і АРХ тютюну.

Дослідження проводили на 5-тижневих рослинах *N. tabacum* екотипу W38. Для проведення стресової обробки відокремлювали надземну частину рослин від кореневої і місце зрізу занурювали в рідке 0,5-кратне середовище Мурасіге-Скуга (0,5xMS), що містило кадмій у концентраціях 0,1; 0,5 та 5 мМ. Обробку проводили протягом 2 та 12 годин.

У результаті наших досліджень встановлено, що інкубування рослин протягом 2-х годин в присутності 0,5 та 5 мМ іонів кадмію призводило до зниження каталазної активності відповідно на 38 та 50%. В умовах більш тривалого 12-годинного стресу за дії 0,5 мМ іонів Cd^{2+} спостерігалось підвищення каталазної активності до рівня контрольних рослин. Це може свідчити про початок стадії адаптації до стресу. Проте за дії більш високої концентрації токсиканта – 5 мМ – активність каталази залишалася зниженою на 30%.

Було також встановлено, що, на відмінну від каталази, активність АРХ не зазнавала суттєвих змін за дії іонів кадмію. Деяке підвищення АРХ активності – на 5-15% - спостерігалося за дії 0,5 та 5 мМ хлориду кадмію в умовах 2-годинного стресу. Це може бути пов'язано з тим, що саме в цих точках каталазна активність знижується і клітина компенсує цю втрату збільшенням активності іншого ферменту, що розщеплює пероксид водню.

Назагал, отримані нами дані свідчать, що за дії 2-годинного стресу, викликаного високими концентраціями Cd^{2+} у листках тютюну, спостерігається суттєве зниження активності каталази, що може бути викликане оксидативною інактивацією ферменту. Проте через 12 годин різниця між контрольними та дослідними рослинами зникає або помітно зменшується, що вказує на перехід рослини у стадію адаптації.

Жук І.

ВПЛИВ ОКСИДУ АЗОТУ НА ПОСУХОСТІЙКІСТЬ *TRITICUM AESTIVUM* L.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01033, Україна
zhuk_bas@voliacable.com

Оксид азоту (NO) виконує сигнальну роль у неспецифічній адаптивній відповіді рослин на абіотичний стрес, у тому числі й на посуху (Мусієнко, Жук, 2009). У рослинній клітині оксид азоту продукується нітратредуктазою через аргінін або нітрит. Встановлено, що NO індукує закриття продихів та сприяє адаптації рослин до посухи шляхом регуляції фотосинтетичного метаболізму (Garcia-Mata C., Lamatina L., 2001). Однак антистресова дія NO вивчена недостатньо. Нашими попередніми дослідженнями виявлено, що додавання донора NO – нітропрусиду натрію – у середовище вирощування озимої пшениці посилювало жаростійкість рослин на ранніх етапах онтогенезу (Жук, Капустян, Мусієнко, 2009). У цих дослідах показано, що під впливом NO посилювалась активність пероксидаз – ключових ферментів утилізації пероксиду водню, який у значній кількості утворювався за дії високотемпературного стресу. Дослідження впливу NO переважно проводилися в умовах модельних лабораторних дослідів, тому нами було поставлене завдання вивчити антистресову дію NO на рослини пшениці в умовах природної посухи.

Польовий дослід проводили у 2009-2010 рр. в умовах Київської області на полях дослідного господарства Інституту ботаніки НАН України «Феофанія». Рослини ярої м'якої пшениці сортів Скороспілка 95, Скороспілка 98, Скороспілка 99, Недра, Дніпрянка, Миронівська яра, Елегія миронівська, Етюд, Вітка та озимої пшениці сортів Артеміда, Смуглянка, Поліська 90, Бенефіс, Аналог, Епілог, Перлина лісостепу, Харус, Донська напівкарликова вирощували на дерново-підзолистому ґрунті з додаванням оптимальної кількості елементів мінерального живлення. Обробку рослин по вегетації проводили шляхом обприскування листків 0,5 мМ водним розчином нітропрусиду натрію – донору NO у фазі трубкування та повторно – у фазі цвітіння, коли температура повітря та ґрунту становила +35-40°С і трималася на цьому рівні протягом усього періоду досліду. Повторність досліду чотириразова. Протягом досліду визначали

активність пероксидаз у мезофілі листків. Морфометричні виміри проводили у фазі наливу зерна: визначали висоту рослин, довжину колоса та прапорцевого листка, кількість зерен у колосі. Аналіз структури врожаю проводили після закінчення вегетаційного періоду.

Встановлено, що обробка рослин пшениці продуцентом NO підвищувала їх стійкість до водного та високотемпературного стресів, збільшувала розмір листків, активувала фермент пероксидазу. Через дві доби після обробки рослин пшениці донором NO в полі у фазі трубкування активність пероксидаз у рослин контрольного варіанта була вищою, ніж у дослідних, що може свідчити про утворення меншої кількості пероксиду водню, послаблення дії високої температури та дефіциту води. Однак у подальшому дія чинників навколишнього середовища викликала зменшення активності пероксидаз у рослин контрольного варіанта. Після завершення формування рослин відзначено збільшення розмірів листків під впливом NO. Виявлено збільшення кількості зерен у колосі та маси 1000 зерен, підвищення врожайності порівняно з контрольним варіантом. Таким чином, NO формував системну відповідь рослин пшениці на посуху, виконував сигнальну та регуляторну роль в антиоксидантному захисті та зменшенні втрат води.

В умовах жорсткої природної ґрунтової та повітряної посухи фізіологічна дія NO на рослини пшениці проявилась у вигляді регуляції водного режиму рослин, підтримки ростових процесів, збільшенні продуктивності рослин. Отже, сигнальна та регуляторна роль NO в умовах природної посухи збільшувала стійкість сортів ярої та озимої пшениці і зменшувала негативну дію дефіциту води і високої температури навколишнього середовища.

Качмар Б., Кобилецька М., Терек О.

ВПЛИВ САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ НА ЗМІНУ ВМІСТУ ВІЛЬНИХ АМІНОКИСЛОТ У ПРОРОСТКІВ ПШЕНИЦІ *TRITICUM ARSTIVUM* L. ЗА ДІЇ ЙОНІВ КАДМІЮ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна
dana-kachmar@rambler.ru

Останнім часом, у зв'язку з бурхливим розвитком промисловості, спостерігається значне зростання рівня важких металів у довкіллі (Hayat, 2007). У фітофізіології набуло значного поширення використання регуляторів росту різної природи для підвищення захисних сил рослинного організму, адже, без сумніву, що рослина повинна певним чином адаптовуватись до впливу важких металів (Терек, 2004). У цьому відношенні добре себе зарекомендувала саліцилова кислота (СК) – новий фітогормон та регулятор росту, котрий покращує рослинний ріст за дії стресу (Шакирова,2003). На даний час, ці механізми потребують детальнішого вивчення.

Відомо, що жива клітина містить певну кількість амінокислот у вільному стані, котрі відіграють важливу роль у функціонуванні рослинної клітини за дії абіотичного стресу. Незважаючи на те, що роль амінокислотного пулу вважається мультифункціональною (Кобилецька,2004; Колупаєв, 1995), вона вивчена недостатньо.

Тому ми вирішили спрямувати свою увагу на дослідження зміни вмісту вільних амінокислот у тканинах проростків пшениці *Triticum aestivum* L. за дії 0,05 мкмоль СК та йонів кадмію концентрацією 10^{-6}, 10^{-7}М.

Насіння пшениці сорту «Крижинка» замочували у досліджуваній концентрації СК протягом трьох годин, після чого переносили на дистильовану воду для проростання протягом трьох діб у термостаті при температурі 24◦С. Згодом проростки переносилися на розчини, які містили: $CdCl_2$ у концентрації 10^{-6}М, 10^{-7}М, та дистильовану воду. В результаті, ми отримали шість наступних варіантів –проростки, насіння котрих замочували у СК та росли на дистиляті; замочували у СК та росли на розчині $CdCl_2$ у концентрації 10^{-6}М і 10^{-7}М;проростки, котрі не піддавалися обробці СК і росли на розчинах солей кадмію досліджуваних концентрацій; контрольні рослини. Через 24 години у тканинах коренів та пагонів проростків визначали вільних амінокислот (Xiong, 2006).

Наші дослідження показали, що у коренях проростків, що росли на середовищі з вмістом кадмій хлориду концентрацією 10^{-6}М та насіння котрих обробляли попередньо розчином СК

загальний вміст вільних амінокислот був найвищим. У проростків, котрі зазнали дії лише СК вміст досліджуваних сполук перевищував значення контролю, проте був нищим за показник у інших варіантах досліду. Дія лише самого важкого металу на тканини коренів проростків пшениці теж приводила до зростання вмісту вільних амінокислот, що є очевидним, адже зростання синтезу амінокислот є однією з неспецифічних реакцій рослинного організму на дію стресового фактора (Кобилецька,2004). Проте дане значення зростання знову ж таки поступалося місцем показника в проростках, на котрі діяли СК й важким металом.

У пагонах ми спостерігали дещо іншу картину – стрімке зростання вмісту вільних амінокислот у проростків, котрі піддавались дії лише СК. Значення даного показника у цьому варіанті досліду перевищувало контрольне майже у 4 рази. Можливо, це пов´язано з тим, що пагони, на відміну від коренів зазнають впливу важкого металу не одразу й тому в пагоних проростків, що піддавались дії СК й металу обох концентрацій вміст вільних амінокислот був хоч й вищим за значення у контрольних проростків, проте доволі нищим аніж у простків, на котрі діяли лише СК.

Отже, наші дослідження показали, що саліцилова кислота веде до зростання вмісту вільних амінокислот у танинах коренів та пагонів проростків пшениці за дії стресового фактору , у даному випадку – йонів кадмію.

Ковальчик М., Величко О.

ІНТЕНСИВНІСТЬ ФОТОСИНТЕЗУ РОСЛИН СОЇ В УМОВАХ НАФТОЗАБРУДНЕНОГО ҐРУНТУ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005, Україна
biofr@franko.lviv.ua

У реальних умовах рослини часто перебувають під впливом комбінованих стресів, які спричинені одночасною сумісною дією різних чинників. У випадку забруднення нафтою у ґрунті нагромаджуються токсичні елементи й сполуки, погіршуються водний і повітряний режими ґрунту та ін., тобто фактично виникають умови комбінованого стресу. Механізми стійкості рослинних організмів за цих умов є малодослідженими, а тому вивчення адаптивних реакцій рослин за умов нафтозабрудненого ґрунту має цінне теоретичне значення. До того ж, отримані результати можуть мати і практичну цінність, оскільки можуть бути використані як для розробки методів тестування стійкості та способів захисту рослин за даних умов, так і з метою фіторемедіації ґрунтів, забруднених нафтою та нафтопродуктами.

Нами досліджувалися адаптивні перебудови рослин сої за впливу нафтового забруднення грунту. Зокрема, вивчали проростання насіння й ріст рослин сої та інтенсивність фотосинтезу рослин сої за умов нафтозабрудненого ґрунту. Рослини сої були вибрані як об’єкт досліджень, оскільки у літературі є повідомлення, що вищі рослини можуть сприяти відновленню нафтозабруднених грунтів. Зокрема, показано ефективність застосування у якості ремедіантів (відновлювачів) нафтозабрудненого грунту рослин осоки шорстковолосистої (Джура та ін., 2007; Джура та ін., 2008) і бобових рослин – сої та люцерни (Величко та ін., 2008).

У результаті проведених досліджень встановлено, що наявність нафти у ґрунті у великих кількостях (5%, 8% нафти) пригнічує схожість насіння сої, ріст коренів і надземної частини рослин. Встановлено також, що у рослин, вирощених у нафтозабрудненому ґрунті, пізніше з’являлися перші справжні листочки.

Дослідження впливу нафтового забруднення ґрунту на інтенсивність фотосинтезу рослин сої показало, що за незначного забруднення грунту нафтою (2%) відбувається деяке підвищення інтенсивності фотосинтезу рослин сої. Але зі зростанням кількості нафти у грунті від 5 і до 8% спостерігали суттєве пригнічення фотосинтетичної активності листків сої. Причиною цього, найшвидше, є погане водозабезпечення рослин у нафтозабрудненому грунті, оскільки показано зниження вологоємності ґрунту унаслідок забруднення його нафтою (Величко та ін., 2007). Вода ж, про що є досить багато повідомлень у літературі, має ви-

значну роль у метаболізмі рослинного організму загалом та є лімітуючим фактором його фотосинтетичної діяльності зокрема (Мусієнко, 2005; Терек, 2007).

Зниження інтенсивності фотосинтезу рослин сої в умовах ґрунту, забрудненого нафтою, відбувається, очевидно, і за рахунок зниження функціональної активності пігментів фотосинтезу. У наших дослідженнях показано, зокрема, що під впливом нафтового забруднення ґрунту відбувається зниження кількості пігментів, а саме – хлорофілу *a* та хлорофілу b. Наші результати узгоджуються з даними інших авторів (Джура та ін., 2008).

Отримані результати свідчать, що одними з реакцій рослин сої у нафтозабрудненому ґрунті є зміна кількості хлорофілів у їхніх листках та зниження інтенсивності фотосинтезу.

Ковальчик М., Сокол О., Величко О., Думанчук Н.

ВМІСТ І СПЕКТРАЛЬНИЙ СКЛАД БІЛКІВ В ОРГАНАХ РОСЛИН СОЇ ПІД ВПЛИВОМ НАФТОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТУ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005, Україна
biofr@franko.lviv.ua

Відомо, що процес адаптації рослин до дії різноманітних екстремальних умов середовища – гіпо- та гіпертермії, посухи, засолення, зниження pH середовища, ультрафіолетового опромінення, гіпоксії, грибного патогенезу та ін. супроводжується суттєвими змінами в біосинтезі білків. Зокрема, показано зниження удвічі кількості загального білка в коренях проростків кукурудзи за умов хлоридного засолення ґрунту (Калініна, 2005), в органах рослин квасолі та кукурудзи за дії теплового та холодового шоку (Доброчаева,1978) та ін. Поряд з тим, що різноманітні стреси призводять до припинення або пригнічення синтезу білків, які мають місце в нормі, одночасно відбувається синтез специфічних стресових білків (Белянская, 1991). Синтез нових поліпептидів, їх якісний та кількісний склад залежить від виду стресового навантаження (Кочубей, 1992). У випадку забруднення ґрунту нафтою рослини перебувають в умовах комбінованого стресу, спричиненого одночасною дією посухи, засолення і токсичних елементів, наявних у складі нафти. З огляду на незначні відомості стосовно кількісного вмісту та спектрального складу білків у рослинах, адаптованих до умов ґрунту, забрудненого нафтою, ці реакції були предметом наших досліджень.

Рослини висаджували у прямокутні горщики, що містили по 6 кг ґрунту. У ґрунт вносили сиру нафту в кількостях 2, 5 і 8%. Контрольними вважали рослини, вирощені у ґрунті без нафти. Екстрагування легкорозчинних білків із клітин коренів і надземної частини рослин сої проводили за допомогою трис-гліцинового буфера (pH 8,3) з захисними агентами. Вміст білка визначали за методом М. Бредфорда (Мусієнко та ін., 2001). Електрофорез білків проводили у вертикально розташованих трубках, заповнених поліакриламідним гелем у трис-гліциновому електродному буфері (pH 8,3) за методикою Сафонових (Биохим. методы в физиологии растений, 1971).

Вивчення особливостей вмісту білків у органах рослин сої показав, що вищим вмістом білка відрізнялися листки *Glicine hispida Maxim*, нижчий зафіксований у коренях рослин. Найбільшу кількість білка (на 30% більше, ніж у контролі) містили листки рослин сої, вирощених у ґрунті, що містив 2% нафти. Дія цієї концентрації, як показали наші попередні результати, була стимулюючою і щодо росту й розвитку рослин. Вміст білка в листках сої за дії вищих концентрацій нафти (5%, 8%) був нижчим порівняно з кількістю білка в листках контрольних рослин. Для коренів рослин сої, що піддавалися дії нафтового забруднення, було характерним неістотне зростання кількості загального білка зі зростанням концентрації нафти у ґрунті.

Аналіз спектрального складу білків в органах рослин сої показав, що для коренів сої за умов нафтозабрудненого ґрунту було характерним нагромадження поліпептидів з відносною молекулярною масою більше 116 кД, чого не спостерігали у контролі. Максимальна молекулярна маса білка, наявного у контролі, становила близько 100 кД. За 2% нафти зафіксовано 2 фракції, що відповідали маркеру з молекулярною масою 116 кД (116, 111 кД). За 5% нафти у ґрунті у спектрі білків коренів сої з'являлися 3 фракції з молекулярними масами близько 116 кД (116, 111 та 101 кД). Максимальна кількість білків була у коренях за дії 8% забруднення. До того ж у випадку дії нафти в кількості 8% наявна фракція з молекулярною масою більше 116 кД, якої не виявлено як у коренях з контролю, так і в коренях із ґрунту, забрудненого 2 і 5% нафти.

Отримані нами результати, таким чином, дають підстави вважати, що адаптація рослин сої до нафтового забруднення ґрунту відбувається шляхом змін у білковому синтезі.

Лущак Ю. В.

ВПЛИВ НІТРОЗИТИВНОГО СТРЕСУ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПРОРОСТКІВ КУКУРУДЗИ

Прикарпатський національний університет ім. Василя Стефаника,
вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76000, Україна
julialushchak@ukr.net

Актуальною проблемою є вивчення біологічної ролі оксиду азоту у рослин, оскільки він може діяти і як сигнальна молекула, і як низькоспецифічний окисник. Метою даної роботи було дослідити вплив нітропрусиду натрію на біохімічні показники проростків кукурудзи.

Об'єктом дослідження були десятиденні проростки кукурудзи, які вирощували на рідкому середовищі Гогланда. Обробка нітропрусидом натрію (НПН) різних концентрацій (0,1, 0,5 та 1 мМ) проводилась у системі *in vitro* протягом 24 год. Додатковим контролем був ферицiанід калію (ФЦК). Пігменти екстрагували етанолом і спектрофотометрично визначали їх концентрацію. Концентрацію карбонільних груп білків визначали за їх зв'язуванням з динітрофенілгідразином. Ферменти екстрагували калій-фосфатним буфером. Їх активність визначали спектрофотометрично.

У результаті проведених досліджень було виявлено, що вивільнення оксиду азоту (яNO) зростало залежно від часу та концентрації НПН.

При визначенні концентрацій пігментів виявили, що обробка проростків 0,1 та 0,5 мМ концентраціями НПН та ФЦК призводила до зростання хлорофілу а (Хл а), хлорофілу b (Хл b), загального хлорофілу й антоціанів порівняно з контролем. Однак при концентрації 1,0 мМ достовірне зростання концентрації загального хлорофілу, Хл b та антоціанів спостерігалося тільки при використанні НПН. Концентрація Хл а за цих умов не змінювалась. Концентрація каротиноїдів достовірно зростала при концентрації 0,1 мМ НПН і ФЦК та при концентрації 0,5 мМ ФЦК.

Концентрація карбонільних груп білків достовірно знижувалася за всіх використаних концентрацій НПН та ФЦК.

Активність каталази зростала при обробці проростків ФЦК на 38-49%, проте інкубація з НПН не впливала на цей показник. Активність аскорбатпероксидази зростала на 44-61% при інкубації з НПН та ФЦК за всіх використаних концентрацій. Виняток становила активність даного ферменту при обробці 1мМ НПН, де достовірних змін не спостерігалось. Активність гваяколпероксидази достовірно знижувалася на 45-80% при дії обох використаних речовин. Цікаво зазначити, що ФЦК призводило до більшого зниження активності даного ферменту. Активність глутатіон-S-трансферази достовірно зростала при дії НПН у концентрації 0,5 та 1,0 мМ на 18 і 28% відповідно. Активність глутатіонредуктази зростала при інкубації з 0,1 та 1,0 ФЦК, однак 0,5 мМ ФЦК не впливала на цей показник. Проте НПН за всіх використаних концентрацій призводив до зростання активності глутатіонредуктази на 40-60%.

Отже, обробка НПН призводила до зростання концентрації пігментів, зниження концентрації карбонільних груп білків, зростання активності аскорбатпероксидази, глутатіон-S-трансферази та глутатіонредуктази, а також до зниження активності гваяколпероксидази.

Максимович В., Пацула О.

ВПЛИВ ІОНІВ ЦИНКУ НА ВМІСТ ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ПІГМЕНТІВ РОСЛИН СОНЯШНИКА

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, 79005, м. Львів, Україна
biofr@franko.lviv.ua

Протягом останнього століття антропогенний вплив на природу досягнув велетенських масштабів. У загальному балансі речовин, які забруднюють атмосферу, сполуки важких металів займають значний об'єм і розглядаються як глобальні забруднювачі.

Вивчення ролі металів у життєдіяльності рослин має велике значення, хоча і сьогодні залишаються не розкритими багато питань щодо дії важких металів (Черных, Ладанин, 1995). Для цих досліджень важливо встановити, як розподіляються важкі метали в різних органах, тканинах, клітинах і органелах. Особливе місце серед важких металів належить цинку. Цей метал впливає на поглинання рослинами води, на фотосинтез, активно впливає на перебіг окисних реакцій у клітинах рослин. Тому метою наших досліджень було встановити стійкості рослин соняшника на основі вивчення вмісту фотосинтетичних пігментів за дії іонів цинку різних концентрацій.

Дослідження проводили із рослинами соняшника (*Helianthus annuus* L.) сорту Піракокс середньопізній. Насіння пророщували протягом 3 діб у чашках Петрі на зволоженому водою фільтрувальному папері у темному термостаті за температури +24ºС. Після цього проростки пересаджували на водні розчини сульфату цинку у концентрації 10^{-3}М, 10^{-4}М і 10^{-5}М. Контролем слугували рослини, вирощені на розчині Холанда–Арнона. Через 7 і 14 діб у дослідних і контрольних рослин визначали вміст фотосинтетичних пігментів.

При визначенні вмісту хлорофілів a та b у листках соняшника нами було встановлено, що вплив іонів цинку на проростки соняшника приводив до зниження кількості хлорофілів, причому вміст хлорофілу b знижувався більше, ніж хлорофілу a. Під дією концентрацій солей цинку також виявлено зміни у вмісті каротиноїдів. Зі збільшенням концентрації $ZnSO_4$ вміст каротиноїдів зростав. Враховуючи, що каротиноїди розглядаються як один із факторів, які забезпечують толерантність рослин до різних видів забруднення, можна припустити, що зростання їх концентрації в наших дослідах пов’язане з їхньою захисною функцією.

Паланиця М., Нестерова Н., Сичук А.

ПІДВИЩЕННЯ ВИБІРНОЇ ФІТОТОКСИЧНОСТІ ГРАМІНІЦИДУ ФЕНОКСАПРОП-*Р*-ЕТИЛУ

[1]Інститут фізіології рослин і генетикиНаціональної академії наук України
вул. Васильківська, 31/17, м. Київ, 03022, Україна
mpalanytsya@mail.ru
[2]Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна

Особливе значення у фізіології дії гербіцидів належить проблемі втрати фітотоксичності гербіцидів у сумішах з іншими гербіцидами. Особливо це актуально для препаратів з групи граміницидів, які можуть застосовуватися в посівах злакових культур, зокрема для феноксапроп -*Р*-етилу (ФП). Річ у тому, що для ефективного захисту цих культур потрібно забезпечити ефективне знищення як злакових, так і дводольних видів бур'янів. Крім того, нез’ясованою залишалася природа антагоністичного зниження фітотоксичності. У зв’язку з цим було поставлено завдання вивчити вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у листках рослин за дії суміші ФП з гербіцидом з прооксидантною дією метрибузином (МТЗ) та визначити ефективність і селективність застосування сумішей даних гербіцидів у посівах озимої пшениці.

Інтенсивність реакцій ПОЛ оцінювали за вмістом у листках ТБК-активних продуктів, які визначали фотометрично (Bieri J.,1960). З метою визначення інтенсивності реакцій ПОЛ використовували в якості тест-об’єкта рослини вівса сорту Чернігівський, як модель чутливого до ФП однорічного злакового бур’яну вівсюга звичайного (*Avena fatua* L.).

Польові дослідження проводилися в посівах озимої пшениці сорту Смуглянка та Подолянка на полях дослідно-виробничого відділу ІФРГ НАНУ. Умови проведення польових дослідів стандартні (Трибель С.О., 2001). Статистична обробка результатів здійснювалася за допомогою стандартного комп’ютерного пакету Microsoft Excel та за загальноприйнятими методиками.

Визначення вмісту кінцевих продуктів ПОЛ – ТБК-активних речовин за дії сумішей ФП з МТЗ показало, що синергічне підвищення фітотоксичності супроводжувалося збільшенням вмісту у листках даного показника. Цей результат підтверджує роль активації окиснювальних процесів у детермінації взаємодії граміницидів з іншими гербіцидами та можливість підвищення їх фітотоксичної дії за допомогою фізіологічно активних речовин, які мають прооксидантні властивості.

Суміш пуми супер + зенкор (ФП+МТЗ) було випробувано на ефективність і селективність дії у посівах озимої пшениці. Польовий дослід було закладено в посіві озимої пшениці сорту Смуглянка, засміченої однорічним злаковим бур'яном метлюгом звичайним (*Apera spica-venti* (L.) Pal Beauv), а також кількома видами дводольних бур'янів, у тому числі лободою білою (*Chenopodium album* L.), підмаренником чіпким (*Galium aparine* L.), ромашкою непахучою (*Matricaria inodora* L.).

Проведені після обробки обліки показали, що додавання зенкору у нормах 300-400 г/га прискорювало розвиток фітотоксичної дії пуми супер на метлюг. Однак у подальшому стимуляції фітотоксичної дії пуми супер не спостерігалося. У період перед збиранням врожаю ефективність знищення метлюга звичайного у всіх варіантах досліду, де норма внесення пуми супер була 1 л/га, не перевищувала 70%. Практично повне знищення метлюга звичайного було досягнуто у варіантах з застосуванням гербіциду паллас та при нормі внесення пуми супер – 2 л/га. У той же час було відмічено, що зенкор, навіть у нормі 200 г/га, суттєво підвищив ефективність знищення гроділом максі дводольних бур'янів, зокрема лободи білої. Якщо у варіантах, де не застосовувався зенкор, ефективність знищення лободи білої гроділом максі не перевищувала 50%, додавання зенкору забезпечило практично повне знищення цього виду бур'янів. Фенологічними спостереженнями та за обліком врожаю нами не було виявлено фітотоксичної дії гербіцидів на озиму пшеницю в жодному з варіантів досліду.

З проведених досліджень випливало, що зенкор навіть у широкому діапазоні норм внесення не вплинув на фітотоксичну дію пуми супер. Пояснення цього негативного результату, можливо, полягає у тому, що для ефекту взаємодії найбільш вагомим фактором є величина фітотоксичної дії самого граміниціду (Мордерер Є.Ю., 2009). Очевидно антагоністичний вплив гроділу максі призвів до зменшення фітотоксичності пуми супер, для здолання якої синергічного впливу зенкору виявилося недостатньо. У зв'язку з цим було продовжено дослідження ефективності застосування суміші пуми супер та зенкора, але без додавання третього компонента, ефективного проти дводольних видів бур'янів.

В умовах польових досліджень було показано, що додавання зенкору до пуми супер забезпечило практично повне знищення як злакових, так і дводольних бур'янів, що свідчить про синергічне підсилення фітотоксичності як пуми супер, так і зенкору (Мордерер Е.Ю., 1996). Однак при застосуванні суміші пуми супер із зенкором спостерігалося пригнічення культури, що призвело до незначного, але достовірного зменшення врожаю.

Як було зазначено вище, у перших польових дослідженнях у жодному з варіантів досліду по фону внесення гроділу максі не було отримано пошкодження культури. У зв’язку з цим, в умовах вегетаційних дослідів було досліджено ефект взаємодії у потрійній суміші пума супер + зенкор + гроділ максі залежно від концентрації амідосульфурону (АСФ), який є однією з діючих речовин гербіциду гроділ максі. Було дійсно показано підвищення вибірної фітотоксичністі граміниціду у сумішах з даними гербіцидами, що підтверджувалося і визначенням вмісту ТБК-активних речовин. АСФ знижував індуковане дією суміші ФП з МТЗ зростання вмісту ТБК-активних речовин у рослин пшениці (культура), а у рослин вівса (модель злакових бур’янів) додавання АСФ призвело до достовірного підвищення вмісту даного показника.

Таким чином, проведені досліди показали принципову можливість підвищення вибірної фітотоксичності гербіциду пума супер за рахунок його застосування у суміші зі синергістом зенкором і антагоністом гроділом максі.

Семилетова О., Бойко С.

ПЕКТОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ ДИКАРІОТИЧНИХ ТА МОНОСПОРОВИХ КУЛЬТУР ГРИБА *IRPEX LACTEUS* (FR.) FR.

Донецький національний університет
вул. Щорса, 46, м. Донецьк, 83001, Україна
a.semiletova@gmail.com

Одним із напрямів біотехнології сьогодення є процес промислового отримання ферментів, здатних до гідролізу пектинових речовин (Беккер, 1968; Ферментні системи…, 1989). Препарати

пектиназ широко застосовуються у харчовій, медичній промисловостях, а також в інших галузях біотехнології як ферменти мацеруючої дії. Зростаюча потреба у препаратах пектинолітичної дії зумовлює актуальність пошуку активних продуцентів цих речовин серед об'єктів живої природи (Беккер З., 1968; Методи експериментальної…, 1982; Ферментні системи…, 1989).

Метою наших досліджень було визначити пектолітичну активність культуральних фільтратів 6 ізолятів базидіального гриба *Irpex lacteus* (Fr.) Fr.: Il-10 (дикаріон), Il-10-2, Il-10-3, Il-10-4, Il-10-5, Il-10-6 (монокаріони). Монокаріотичні культури отрумували з дикаріотичної загальноприйнятими методами (Методи експериментальної.., 1982).

Гриби культивували на середовищі з пектином (3 г/л) протягом 15 діб при температурі 28°С. Активність пектиназ (ПА) у культуральному фільтраті визначали методом титрування на 3, 6, 9, 12 та 15-ту доби культивування (Методи експериментальної…, 1982). За одиницю активності приймали таку кількість ферменту, яка утворювала 1 мкМ галактуронової кислоти з молекули пектину протягом 1 хв в умовах досліду (pH=4,0; t=24°C). Питому активність полігалактуронази (ППА) визначали відношенням загальної активності до вмісту білка у культуральному фільтраті. Вміст білка визначали спектрофотометрично (Дарбре, 1989). Результати досліджень піддавались методам статистичної обробки (Приседський, 1999).

У результаті проведеної роботи встановлено, що ПА усіх культур відрізнялася між собою та мала різні динаміки, зафіксовані в ході досліду. Абсолютний максимум ПА проявляють монокаріотичні культури Il-10-4 на 9-ту добу (0,556±0,042 од/мл) та Il-10-2 на 3-тю добу (0,511±0,038 од/мл), при цьому їхні значення достовірно між собою не відрізняються. Відсутність активності зафіксовано для культур Il-10-6 на 12-ту добу культивування та Il-10-5 на 15 -ту добу культивування. Різноманітність отриманих результатів ПА свідчить про неоднорідний генетичний набір досліджуваних культур і високу варіативність ізолятів виду *Irpex lacteus* за здатністю до утилізації пектину в живильному середовищі.

Таким чином, культури виду *Irpex lacteus* здатні до активного синтезу ферментів пектинолітичної дії, активність цих ферментів широко варіює залежно від доби культивування та генетичного набору культури-продуцента. Ізоляти грибів виду *Irpex lacteus* можуть бути новими перспективними об'єктами біотехнології пектиназ.

Смірнов О., Косян А., Косик О.

ВПЛИВ СИНТЕТИЧНОГО РЕГУЛЯТОРУ РОСТУ ХЛОРХОЛІНХЛОРИДУ НА НАКОПИЧЕННЯ ФЛАВОНОЇДУ РУТИНУ ТА ПЛАСТИДНИХ ПІГМЕНТІВ РОСЛИН ГРЕЧКИ ТАТАРСЬКОЇ (*FAGOPYRUM TATARICUM* G.)

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64, Київ, 01033, Україна
mcd_smirnov@mail.ru

В умовах сучасності значно зростає зацікавленість лікарськими засобами рослинного походження. До біологічно активних речовин, які є основою для багатьох фармацевтичних препаратів, належать речовини з *P*-вітамінною активністю й антиоксидантними властивостями, об'єднані єдиною назвою біофлавоноїди. Найпоширенішим і найбільш цінним представником цього класу сполук є рутин - флавоновий глікозид кверцитину. Широкий спектр дії рутину робить його цінною біологічно активною речовиною і потребує вирішення проблеми легкого та дешевого способу його отримання з рослинної сировини. У цьому аспекті увага науковців може бути прикута до традиційної української круп'яної культури – гречки. Серед трьох видів гречки *Fagopyrum esculentum* Moench., *Fagopyrum tataricum* G. й *Fagopyrum homotropicum* L. найбільшим вмістом рутину та інших флавоноїдів характеризується саме гречка татарська *Fagopyrum tataricum* G. (Krauze J., 1996, Joan-Hwa Yang., 1995).

Крім того, існують передумови для використання синтетичних регуляторів росту для підвищення синтезу флавоноїдних сполук і фотосинтетичних пігментів у рослині (Гыска М., 1986, Шерер В. 1991).

Відомо, що в результаті дії ретардантів формуються вкорочені стебла, відбувається перерозподіл пластичних речовин між стеблом і репродуктивними органами, підвищується біосин-

тез ферментів, які регулюють утворення фенольних сполук. Тому метою нашої роботи було встановити вплив різних концентрацій (0,25, 0,5, 1, 2, 4%) ретарданта хлорхолінхлориду (ССС) на вміст вторинних метаболітів фенольної природи та пластидні пігменти гречки татарської.

У ході експерименту було встановлено, що обробка насіння гречки татарської хлорхолінхлоридом в концентрації 0,25 та 4% призводила до зростання рівня як хлорофілів, так і каротиноїдів. Зазначені вище концентрації підвищували вміст хлорофілу *a* на 17 і 5%, хлорофілу *b* на 31 та 19% щодо контролю. При цьому рівень каротиноїдів зростав на 30% за дії 0,25% ССС та на 9% за дії 4% ССС.

Нами зафіксовано зростання величини відношення вмісту суми хлорофілів до каротиноїдів при обробці насіння гречки татарської ССС у концентраціях 0,25, 2 і 4% на 37,5, 12,0 і 23,0% відповідно.

Однак дані наших експериментів свідчать про підвищення вмісту рутину відносно контролю на 11% лише за умов обробки насіння гречки ССС в концентрації 0,25%.

Отже, з отриманих нами результатів можна зробити висновок, що дія хлорхолінхлориду у концентрації 0,25% викликала оптимальні фізіологічні зміни в рослинах гречки татарської (*Fagopyrum tataricum* G.), призводячи до підвищення синтезу хлорофілів, каротиноїдів та флавоноїду рутину.

Фецко З., Баранов В., Микієвич І.

ВМІСТ ЕЛЕМЕНТІВ У ПРОРОСТКАХ БОБІВ КІНСЬКИХ ПРИ ПІДЖИВЛЕННІ ТРАДИЦІЙНИМИ І КАПСУЛЬОВАНИМИ ДОБРИВАМИ ЗА УМОВ РОСТУ НА СУБСТРАТАХ ПОРОДНОГО ВІДВАЛУ ВУГІЛЬНИХ ШАХТ І ҐРУНТАХ, ЗАБРУДНЕНИХ НАФТОЮ

Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005 Україна,
biofr@franko.lviv.ua

Однією з гострих проблем сьогодення є питання відновлення техногенно-забруднених ґрунтів. До числа наймасштабніших джерел забруднення різноманітних екосистем належать добування, транспортування та переробка нафти. Відомо, що склеювання структурних частин ґрунту нафтою призводить до зростання в'язкості та щільності ґрунтової маси, що погіршує його повітряно-водний режим. Такий ґрунт набуває гідрофобних властивостей. Ще однією проблемою є видобування вугілля, яке супроводжується накопиченням пустої породи у вигляді відвалів – териконів, які мають несприятливі едафічні умови для росту рослин. Показано, що і відвал Центральної збагачувальної фабрики „Львівської вугільної компанії" має високу кислотність і високий вміст важких металів, які з опадами вимиваються і забруднюють оточуюче середовище [Баранов, 2008]. Субстрат відвалу складається з чорної (неперегорілої) та червоної (перегорілої) аргілітової породи. У більшості вуглевидобувних країн і регіонів України актуальним завданням є озеленення відвалів. Можливим вирішенням цієї проблеми є підбір стійких рослин для фітомеліорації. Як рослина-азотфіксатор на стійкість до цих умов досліджувалися боби кінські. Одночасно, враховуючи відсутність біофільних елементів у субстратах відвалу, вивчався вплив підживлення традиційною і капсульованою нітроамофоскою з оболонкою з лігніну та глауконіту. Метою роботи було вивчити надходження елементів у проростки бобів кінських, що росли на різних ґрунтових субстратах відвалу.

Результати засвідчують, що вміст фосфору (неорганічна форма) зростав за дії промислових добрив і зменшувався за дії капсульованих, що вочевидь свідчить про більш інтенсивне включення фосфору в органічні сполуки за дії капсульованих добрив. Вміст нітратів знижувався за впливу традиційної нітроамофоски на обох породах, тоді як за дії капсульованих добрив зростав на червоній породі і знижувався на чорній породі, що залежало від різної кислотності цих субстратів. Вміст аміаку знижувався за дії традиційної нітроамофоски на обох породах, а за впливу капсульованої форми був на рівні контролю на червоній і знижувався на чорній породі. Оскільки чорна порода має дуже низький pH – 2,78-3,24, червона більш нейтральне pH, то, на нашу думку, зміни вмісту нітратної і аміачної форм азоту на чорній породі

свідчать про порушення шляху редукції нітратів, як при рості на чистій породі, так і за дії традиційних добрив. На червоній породі порушення менш значні та за дії капсульованих добрив вміст елементів більше наближається до нормального, причому за дії капсульованих добрив вміст елементів є більшим, ніж за дії традиційних. Таким чином, використання капсульованих добрив є кращим при використанні на червоній породі, ніж на чорній, а оскільки відвал в основному складається з породи червоної, то це свідчить про доцільність впровадження таких добрив у практику підживлення рослин на подібних антропогенних ґрунтах. Капсульовані добрива є і більш екологічно ефективними, оскільки володіють пролонгованим вивільненням елементів із добрив, а за умови наявності великої площі крутих схилів може слугувати додатковою доцільністю їх застосування у цих специфічних умовах для покращення росту рослин – фіторекультивантів ґрунту.

Юсипович Ю., Ковальова В., Гут Р.

ВПЛИВ САЛІЦИЛОВОЇ ТА ЯСМИНОВОЇ КИСЛОТ НА РІВЕНЬ ЕКСПРЕСІЇ ДЕФЕНЗИНІВ PsDef1 ТА PsDef2 У ПРОРОСТКАХ *PINUS SYLVESTRIS* L.

Національний лісотехнічний університет України
вул. Ген. Чупринки, 103, м. Львів, 79057, Україна
ukrdltu@forest.lviv.ua

Рослинні дефензини – низькомолекулярні білки з широким спектром антимікробної активності, які експресуються конститутивно або індуковано у поверхневих тканинах вегетативних і генеративних органів та насінні (Thomma B. *et al*., 2002). Експресія дефензинів регулюється фітогормонами. Відомо, що активація експресії рослинних дефензинів, зокрема, Арабідопсису (*PDF1.2*; Penninckx *et al*., 1998) та дефензину *Picea glauca* (*PgD1*), відбувається по ясминатному шляху (Pervieux I. *et al*., 2004). Саліцилова кислота аналогічно може виконувати роль індуктора експресії багатьох інших захисних білків.

PsDef1 та PsDef2 – дефензини, які ідентифіковано в проростках *Pinus sylvestris* у лабораторії молекулярно-генетичних маркерів рослин кафедри лісівництва НЛТУ України. Здійснено клонування та розроблено методику отримання ендогенного і рекомбінантного дефензину 1 сосни звичайної (PsDef1) (Ковальова В.А. та ін., 2007-2009), а також підтверджено антифунгальну дію рекомбінантного білка.

Метою даної роботи було дослідити вплив саліцилової та ясминової кислот на рівень експресії PsDef1 і PsDef2 у проростках *Pinus sylvestris* на рівні мРНК. 6-денні проростки обробляли 2 мкМ саліциловою та 0,95 мМ ясминовою кислотами, пророщували за температури 26°С і збирали через 48 год після обробки. Експресію дефензинів 1 і 2 дослідили за допомогою ЗТ-ПЛР (зворотної транскриптазної ланцюгово-полімеразної реакції) зі специфічними праймерами, які добиралися відповідно до нуклеотидних послідовностей *PsDef1* і *PsDef2*, раніше депонованих до GenBank. Як внутрішній контроль транскрипції використано праймери до рибосомального білка L44. Аналіз продуктів ампліфікації здійснено за допомогою програми GelPro.

Результати аналізу свідчать, що саліцилова та ясминова кислоти посилюють транскрипцію *PsDef1* і *PsDef2* у 8-денних проростках *Pinus sylvestris*. Кількісний вміст транскриптів *PsDef1* виявився на 27% вищий у проростках, оброблених саліцилатом і на 77% вищий у проростках, оброблених ясминатом, порівняно з контролем, кількість якого умовно прийнята за 100%. Також виявлено підвищений рівень транскриптів *PsDef2* на 55% і на 110% у проростках сосни, оброблених саліциловою та ясминовою кислотами відповідно.

Результати даного дослідженя можуть бути використані при розробці методів підвищення стійкості сіянців сосни звичайної на основі стресових фітогормонів від згубного біотичного впливу, спричиненого типовими фітопатогенами у відкритому ґрунті.

Gavryliuk O.1,[3], Kosyk O.[1], Brunet J.[2], Potters G.[3]

EFFECTS OF LOW CADMIUM CONCENTRATIONS ON PLANT GROWTH AND PIGMENT CONTENT OF *BRASSICA JUNCEA*(CZERN.)

Taras Shevchenko National University of Kiev, Volodymyrska St., 60, 01030 Kiev, Ukraine
[2]Ecophysiologie Moléculaire, IBIOS, UMR Bioemco 7618, Université Paris-Est Créteil, 61 avenue du Général de Gaulle, 94010 Créteil cedex, France
[3]University of Antwerp, Groenenborgerlaan 171, B-2018 Antwerp, Belgium
ov_gavryliuk@ukr.net

Cadmium accumulation in crops is a difficult problem, especially in developed countries. Cd may enter the soil from different sources, including air pollution, the use of commercial fertilizers, sewage sludge, manure and lime. It has been suggested to cause damage even at very low concentrations. Some plants are able to accumulate Cd to such an extent that it becomes toxic for those mammals that would consume the plants. Indeed, it is widely recognized that Cd taken up by plants is the main source of Cd accumulation in food.

On the other hand, phytoremediation, the clearing of heavy metal contaminated soils with the aid of plants, is based on the ability of plants to take up large quantities of heavy metals. Indeed, some plants are able to accumulate metals, concentrate them in their roots, and sometimes store hem to the aerial parts. So far, a lot of the research has focused on one well known hyperaccumulator species, namely Indian mustard (*Brassica juncea* (L.) Czern). The aim of the present study is to establish a baseline response of these plants to Cd treatments, that can serve as a reference point for future more in-depth studies.

Seeds of *Brassica juncea* (L.) Czern var. Novinka were grow up in Murashige and Skoog medium with 5, 10, $20*10^{-6}$M of cadmium sulphate during 7 days. These concentrations were chosen because they correspond best with the majority of the conditions plants will encounter when growing on polluted soil. Growth was assessed by way of root and shoot length measurements. Pigments (chlorophyll a and b and carotenoids) were extracted from leaf segments with chilled 80% acetone and analysed spectrophotometrically accoriding to the method of Yang (Chi-Ming Yang et al. 1998).

No significant changes in the plants' root and shoot growth and development could be noted, nor were there any changes in the chlorophyll content. Obtained results indicated no influence of cadmium in small concentrations on growth parameters and pigments content in plant-hyperaccumulator Indian mustard.

Jozwiak A., Koziowska M.

4-COUMARATE-COA LIGASE ACTIVITY UNDER ENVIRONMENTAL STRESSES IN TWO CUCUMBER GENOTYPES

Department of Plant Physiology
Poznan University of Life Sciences
Woiynska 35, 60-637 Poznan, Poland
jozwiak.ani@gmail.com, anik_a@o2.pl

Higher plants in natural environment are strongly affected by different abiotic and biotic stresses like UV radiation, allelochemical substances, drought, pathogens, etc., acting not single but mostly simultaneously. The response to combination of different stresses is unique and cannot be extrapolated from the response of plants to each of them separately (Mittler 2006). The phenylpropanopid pathway, an important metabolic pathway in plants, is responsible for synthesis a large range of secondary products and participates in plant response to stress factors. 4-Coumarate-CoA ligase (4CL, EC 6.2.1.12) catalyzes the conversion of the three cinnamic acid derivatives 4-coumaric acid, caffeic acid, and ferulic acid to their corresponding CoA esters in a two -step reaction. This catalytic process is characterized by the formation of a coumaroyl-adenylate intermediate, which is subsequently converted to the corresponding CoA ester. The activated phenolic acids serve as precursors for the biosynthesis of plant secondary products such as flavonoids, isoflavonoids, coumarins, lignin, suberin, and wall-bound phenolics (Schneider *et al.* 2003).

The aim of the study was to determine the participation of phenylpropanoid pathway under combined biotic and abiotic (enhanced UV-B radiation and ferulic acid-allelochemical substance) stresses. Cucumber genotypes differ in sensitivity to cold (no 1 – susceptible and no 14 – resistant) were cultivated in a growth chambers. Seedlings were exposed to UV-B (6 hours at 18 kJ $m^{-2}d^{-1}$ – additionally to PhAR light), 2mM ferulic acid (FA) – supplied to vermiculite, to a double stresses: UV-B plus FA acting simultaneously and additionally to *Botrytis cinerea* infection.

Under the influence of UV-B or FA, the significant induction of enzyme activity in genotype 1 was noticed whereas significantly lower in genotype 14. Under simultaneous stress combination 4CL activity increased in genotype 1, however, this increase was lower than under the influence of stresses acting alone. In genotype 14 4CL activity was at a similar level under the influence of FA+UV-B and FA acting alone. After *B. cinerea* infection the activity increased and some antagonistic interaction was observed. There were significant differences between both genotypes; the response of no 1 was much higher in comparison to no 14.

Jozwiak W.

EFFECTS OF WATER DEFICIT AND SELENIUM ADDITION ON CUCUMBER (*CUCUMIS SATIVUS* L.) SEEDLINGS

Poznan University of Life Sciences
Woiycska 35, 60-637 Poznac, Poland
weronika.jozwiak@interia.pl

Drought stress is one of the most important worldwide agricultural problems. Decrease in the water potential in plants may initiate many destructive physiological processes leading to cell membrane damages, chlorophyll bleaching and the others which determine plants ability to survive under stress conditions (Kuznetsov et al.).

Selenium is an essential trace for human and animals but its role in higher plants has not been demonstrated yet. However, recent findings indicate that although Se is harmful for plants in high concentrations, at low concentrations it promote growth by increasing stress tolerance for various factors (Hartikainen et al. 2000; Cartes et al. 2003).

The aim of the study was to examine the response of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings var. 'Dar' to water deficit (WD), selenium (Se) treatment and to the combination of the two. For this purpose, membrane permeability in roots, as well as chlorophyll and relative water content (RWC) in cotyledons were measured.

Experiments were carried out in water cultures. Seedlings were grown in a growth chamber in glass boxes (on plates covered with water-moistened filter paper) at 25˚C under luminescent light (165 W m^{-2}, Philips lamps) for 14-h day and 10-h night. Seven-days old seedlings were moved into Hoagland's nutrient solution containing selenium for the 4 days. Se was added as 5, 10, 50 and 200 µM sodium selenite ($Na_2SeO_3 \cdot 5H_2O$) [marked as Se-0 (control), Se-5, Se-10, Se-50, Se-200]. Then half of plates with 11-days old seedlings from each combination were transferred into empty glass boxes and subjected to slow dehydration for 24, 48 and 72 hours.

Water withholding decreased RWC in the studied cotyledons. The largest RWC reduction was observed 48 hours after stress introduction, to about 70%. Se treatment has contributed to maintaining water content at a level close to the control – 85-90% and at the concentration of 5 µM did not modify RWC changes also 72 hours after stress. A slight RWC reduction was observed after Se treatment in 48 and 72 hours in watered seedlings. An increase in chlorophyll content was observed 48 h and 72 h after stress in the seedlings exposed to Se at the concentration of 5 µM. An increase of this pigment was also observed in non-stressed seedlings growing in the presence of 5 and 10 µM Se. Membrane injury was the highest after 72 h of stress in plants treated with Se at the concentration of 50 and 200 µM and was about 35% and 55%, respectively, as compared to the control. However, Se addition at the concentration of 5 µM diminished membrane injury to 0,5 % in the period of 24 hours after stress and about 2% after 48 h of water withholding in comparison to water-stressed seedlings without Se treatment.

The presented results show beneficial effect of low selenium concentration (5µM) on cucumber seedlings by increasing chlorophyll content and maintaining RWC at a value similar to the control in the seedlings growing under water stress conditions.

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН, БІОМЕДИЦИНА
HUMAN AND ANIMALS PHYSIOLOGY, BIOMEDICINE

Алєксєєв О., Німилович М.

ЕХІНАЦЕЯ ПУРПУРНА – ЦІННА ЛІКАРСЬКА РОСЛИНА

Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка
вул. В. Івасюка, 11, м. Трускавець, 82200, Україна
bioddpu@ukr.net

У час стрімкого розвитку науки й техніки, загострення екологічних проблем, мутації збудників захворювань важливим є збереження здоров'я, посилення ослаблених захисних сил організму. Офіційна медицина світу все більше схиляється до того, що у лікуванні захворювань різної складності слід звертатися не лише до хімічних препаратів, а й до лікарських рослин. Медична практика доводить, що вони не лише доповнюють силу таблеток та ін'єкцій, а й часто стають основними в зціленні недужого. У XX столітті увагу науковців привернула нова рослина – ехінацея, яка походить із прерій Північної Америки. Проте, незважаючи на тривалі дослідження у даній галузі, не вдалося ще до кінця зрозуміти механізм дії ехінацеї, її вплив на організм людини.

Метою роботи було розглянути морфологічні, біохімічні особливості ехінацеї пурпурної та її вплив на організм людини.

Ехінацея пурпурна (*Echinacea purpurea*) – багаторічна трав'яниста рослина з відносно тонкими галузистими коренями. Стебла міцні, легкі, галузисті висотою 60-150 см. Розрізняють темно-зелені, черешкові прикореневі листки (яйцевидні або яйцевидно- ланцетні, довгі, загострені) та стеблові листки (овально-ланцетні, грубопиловидні або цілокраї). Квіти з опущеними пелюстками, квіткова головка нагадує їжака. Конічні квіткові головки мають висоту 1,5-2,5 см і діаметр 4 см. Трубчасті квіти довжиною 5 мм. Пурпурно зафарбовані звисаючі язичкові квіти мають довжину 4-6 см. Час цвітіння у перші роки зростання у вересні, а в наступні роки – в липні і в серпні. Батьківщиною є прерії та піщані землі в США, західніше від Огайо (Lowell, 1990).

Встановлено, що рослина складається з великої кількості сполук: алкіламіди ненасичених жирних кислот, гетероглікани, похідні кофейної кислоти, фенольні сполуки, алкалоїди, аскорбінова кислота. Чіткий натяк на імуностимулюючу дію гетерогліканів (із класу полісахаридів) було виявлено при дослідженнях *in vitro*. Вони стримують дію бактерійної тканинної гіалуронідази та не допускають поширення збудника (Eckehardt, 2008). Корінь містить такі сполуки: ефірну олію (у висушеному стані 1,25%, у свіжому – 1,5%), живицю, яку ще називають смолою (1,9%), інулін, глюкозу, фруктозу, фенольну кислоту, бетаїн (0,1%), глікозидаміловий спирт (0,3%), можливо триоксифенілпропіонову кислоту (Lloyd, 1904).

Співробітники Коннектикутського університету (США) на чолі з Craig Coleman встановили, що при вживанні ехінацеї пурпурної спостерігається редукція небезпеки інфекції на 60% (Mutschler, 2001). Підвищення захисних сил організму ґрунтується на стимуляції неспецифічної імунної системи, підсиленні активації фагоцитозу пор клітин і вимоги звільнення інтерлейкіну, інтерферону та фактора некрозу пухлин-α. Антивірусний ефект спрямований на затримання проникнення вірусів у клітину (Eckehardt, 2008). Деякі вчені відзначають ефективність препаратів ехінацеї пурпурної при певних захворюваннях: Walsh – при карбункулах, абсцесах, тифу, менінгіті, пологовій лихоманці; Ritter – при фурункульозі; Haines – проти карбункулів (Lloyd, 1904). Професор Wood (один із відомих гінекологів США) вказує, що рослина підтримує опсонічний індекс і перешкоджає проникненню та розмноженню збудників інфекцій; Dahlke рекомендував її при глибоких розладах травлення з підозрою на злоякісні захворювання; Arnulphy описує як цінний засіб у боротьбі з всіма видами сепсису; успішне використання є у щонайменше 60 випадках апендициту; Tellier вказував, що при діабетичній гангрені ехінацея спричиняє зникнення цукру у крові та ацетону в сечі (Lloyd, 1904).

Великопольська О., Манько Б., Манько В.

ЗАЛЕЖНІСТЬ ДИХАННЯ СЕКРЕТОРНИХ КЛІТИН СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЛИЧИНКИ ДЗВІНЦЯ ВІД АКТИВНОСТІ РІАНОДИНЧУТЛИВИХ Ca^{2+}-КАНАЛІВ ЗА ОКИСЛЕННЯ МАЛАТУ І ПІРУВАТУ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
Olga.Velykopolska@gmail.com

Між системами активного і пасивного транспортування Ca^{2+} наявні прямі та зворотні регуляторні зв'язки, які забезпечують формування цілих ансамблів цих систем – Ca^{2+}-функціональних одиниць, з принципово новими властивостями і функціями (Манько, 2008). Важливе значення в організації Ca^{2+}-функціональної одиниці відводиться регуляторним чинникам, які забезпечують їхній перехід з одного стану активності в інший. До складу ендоплазматично-мітохондріальної Ca^{2+}-функціональної одиниці секреторних клітин слинних залоз личинки дзвінця входять канали вивільнення Ca^{2+} з ендоплазматичного ретикулуму (RyRs, IP_3Rs) і Ca^{2+}-уніпортер мітохондрій. Внаслідок її активації (перехід із стану спокою у стан активності) дихання і окисне фосфорилювання повинні стимулюватися, оскільки відомо, що збільшення Ca^{2+} у матриксі мітохондрій інтенсифікує ці процеси (Moreno-Sanchez, 1985). Метою наших досліджень було отримати підтвердження наявності ендоплазматично-мітохондріальної Ca^{2+}-функціональної одиниці.

Дослідження проводили на ізольованих слинних залозах личинки дзвінця *Chironomus plumosus*. Швидкість поглинання O_2 визначали полярографічно з використанням кисневого електрода Кларка. Позаклітинне середовище містило, ммоль/л: NaCl – 136,90, KCl – 5,36, $CaCl_2$ – 1,76, Na_2HPO_4 – 0,35, KH_2PO_4 – 0,44, $MgCl_2$ – 0,95, глюкоза – 5,55; pH 7,2. Клітинне дихання стимулювали сумішшю малату (5 ммоль/л) з піруватом (5 ммоль/л). Проникність плазматичної мембрани для субстратів забезпечували, активуючи P2X-рецептори додаванням АТФ (100 мкмоль/л; Великопольська та ін., 2010). Для активації ріанодинчутливих Ca^{2+}-каналів залози попередньо інкубували 15 хв з ріанодином у концентрації 10 нмоль/л.

Швидкість ендогенного дихання у контролі становила 0,40±0,01 нг-ат О/хв/залозу (n=5). Внесення у полярографічну комірку суміші малату і пірувату (на тлі АТФ) привело до інтенсифікації поглинання кисню до 0,56±0,01 нг-ат О/хв/залозу, тобто на 40,05 ± 2,60% (n=5, $P \leq 0{,}001$). Це зумовлено проникненням екзогенних субстратів окислення через активовані P2X-рецептори у цитозоль і енергізацією цими субстратами мітохондрій. Після преінкубації слинних залоз з ріанодином швидкість ендогенного дихання зростала до 0,53±0,01 нг-ат О/хв/залозу – на 34,08±2,04% (n=5, $P \leq 0{,}001$) щодо контролю. Стимуляція дихання сумішшю малату і пірувату підвищує швидкість дихання залоз, інкубованих з ріанодином, до рівня 0,72±0,03 нг-ат О/хв/залозу, тобто на 34,95±4,24% (n=5, $P \leq 0{,}001$).

Інтенсифікація ендогенного дихання після обробки залоз ріанодином зумовлена, очевидно, вивільненням депонованого Ca^{2+} з ендоплазматичного ретикулуму (Великопольська та ін., 2008) і наступним поглинанням його мітохондріями. Інтенсивність мітохондріального окислення контролюється, очевидно, регуляцією іонами Ca^{2+} піруватдегідрогенази, ізоцитратдегідрогенази і альфа-кетоглутаратдегідрогенази (McCormack et al., 1980), а також стимуляцією АТФ-синтази (Das et al., 1990), гліцерофосфатдегідрогенази (Wernette et al., 1981), аденіннукленотидтранслокази (Mildaziene et al., 1995). Внесення малату з піруватом веде, в першу чергу, до активації окислення субстратів Ca^{2+}-залежних дегідрогеназ. Тому суттєве підвищення швидкості малат- і піруватстимульованого дихання (на відміну від сукцинатстимульованого) за дії ріанодину вказує на зростання активності піруватдегідрогенази, ізоцитратдегідрогенази і/або альфа-кетоглутаратдегідрогенази. Це можливо лише за наявності у клітині ендоплазматично-мітохондріальної Ca^{2+}-функціональної одиниці, регуляторними чинниками якої є як катіони Ca^{2+}, так і молекули АТФ.

Горяча І.[1], Дюбко Т.[1], Жегунов Г.[2], Зінченко В.[1], Бондаренко О.[3]

ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕПАРАТУ АСД-2
ПРИ КРІОКОНСЕРВУВАННІ ЕРИТРОЦИТІВ ТВАРИН

[1] Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України
вул. Переяславська, 23, м. Харків, 65015;
[2] Харківська державна зооветеринарна академія
вул. Академічна 1, сел. Мала Данилівка, Харківська обл., 62341;
[3]Інститут радіофізики і електроніки ім. А.Я. Усикова НАН України
вул. Акад. Проскури, 12, Харків; 61085, Україна;
irinagoryachaya@rambler.ru

Технології низькотемпературного консервування клітин, які існують в нинішній час, у більшості випадків пов'язані із застосуванням кріопротекторів. Кріопротектори це речовини колігативної дії, вони впливають на характер кристалоутворення льоду в суспензіях клітин, які заморожують, впливають на трансмембранні потоки позаклітинних розчинів, розбавляють гіперконцентровані розчини, що виникають у процесі кристалоутворення основної маси води. Останнім часом у світі кріобіологи звертають увагу на методи захисту клітин неколігативної дії, які здатні сприяти підвищенню кріорезистентності клітин і стійкості теплокровних тварин до холоду, а також підвищенню ефективності їх відновлення після охолодження. Захисні речовини некріопротекторної дії реалізують свій захисний ефект додатково до ефекту кріопротекторів.

Метою цієї роботи стало вивчення дії тканинного препарату антисептика-стимулятора Дорогова фракції 2 (АСД-2) на збереження еритроцитів тварин (бугая і коня), які консервують під захистом відомих кріопротекторів.

Встановлено що, препарат АСД-2 взаємодіє з мембранами еритроцитів тварин. При цьому в концентрації до 50 об. % він не порушує цілісність мембран еритроцитів при кімнатній температурі, що було виявлено по відсутності спонтанного гемолізу. Однак, при заморожуванні-відігріванні без кріопротекторів препарат АСД-2 не лише не захищає клітини від пошкодження, але і підсилює його, що також говорить на користь безпосередньої взаємодії АСД-2 з мембранами.

Поєднання АСД-2 з низькомолекулярними кріопротекторами (гліцерином, 1,2-пропандіолом і диметилсульфоксидом (ДМСО)) сприяє підвищенню збереженості клітин після заморожування-відігрівання порівняно з заморожуванням без АСД-2. Показано, що при використанні режиму "швидкого" заморожування більш ефективним, як кріопротектор, є ДМСО, а при використанні режиму "повільного" заморожування більш ефективним виявляється гліцерин.

Препарат АСД-2, на нашу думку, захищає мембрани клітин від пошкодження при обох режимах, які застосовувались.

Гошовська Ю., Шиманська Т., Сагач В.

РОЛЬ ОКСИДУ АЗОТУ В РОЗВИТКУ АДАПТАЦІЙНИХ МОЖЛИВОСТЕЙ МІОКАРДА
ЗА ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця
вул. Богомольця, 4, Київ, 01024, Україна
pokutt@gmail.com

Тренованість, що розвивається внаслідок тривалих помірних фізичних навантажень, характеризується підвищеною стійкістю до втомлюваності та збільшенням внутрішніх резервів організму. Тривалі заняття спортом сприяють покращенню функціонування серцево-судинної системи і є основним типом профілактики ішемічних пошкоджень міокарда. Основним регулятором тонусу судин та скоротливої активності серця, за рахунок вазодилататор-

них властивостей, є оксид азоту (NO). Внаслідок активації NO-синтезуючих ферментів при фізичних тренуваннях продукція NO збільшується, однак його участь в збільшенні резервів міокарда залишається не окресленою. Метою цієї роботи було оцінити роль оксиду азоту в розвитку адаптаційних можливостей серця тренованих щурів.

Групу тренованих щурів (6 міс., 300-350 г) навантажували плаванням протягом 6 тижнів, щодня збільшуючи тривалість плавання протягом чотирьох тижнів (від 2 до 75 хв) та стабільним часом (75 хв) протягом наступних двох тижнів. Ізольовані серця́ щурів перфузували ретроградно розчином Кребса-Хензеляйта (37˚С) при постійному тиску 75-80 мм рт. ст. Реєстрували тиск, що розвиває лівий шлуночок ($P_{лшл}$), його першу похідну (dP/dt_{max} і dP/dt_{min}), коронарний потік, частоту серцевих скорочень (ЧСС). Блокаду ендогенного синтезу NO здійснювали за допомогою L-NAME (N(G)-нітро-L-аргінін метил естер гідрохлорид), який вводили в перфузат протягом 15 хв у концентрації 10^{-5} М. Для оцінки функціональних резервів міокарда вивчали залежність $P_{лшл}$ від об'єму (закон Франка-Старлінга). Для цього здійснювали послідовне дозоване збільшеня об'єму балончика, що містився у лівому шлуночку, з кроком 33 – 34 мкл за допомогою шприца з мікрогвинтом.

У серії тренованих щурів спострігали покращення показників скоротливої активності серця порівняно з контрольною серією: збільшення тиску та швидкості розслаблення міокарда, а також збільшення коронарного потоку і зниження ЧСС, що свідчило про помірний, не виснажливий характер обраних навантажень. Крім того, серця тренованих тварин відповідали більшою силою скорочень у відповідь на збільшення об'єму балончика в лівому шлуночку, що характеризувало збільшення їх резервів. Блокада синтезу оксиду азоту за допомогою L-NAME скасовувала ефект фізичних тренувань, що чітко спостерігалось на кривій Франка-Старлінга. Об'єм балончика, при якому dP/dt_{max} і dP/dt_{min} наближались до нуля, у тренованих сердець в середньому становив 429 мкл, в той час як попередня блокада синтезу NO знижувала цей показник до 264 мкл.

Отже, покращення функції серця та розвиток адаптаційних можливостей міокарда при фізичних навантаженнях забезпечується ендогенним синтезом NO, оскільки блокада його синтезу фактично нівелювала ефект тренувань.

Робота виконувалась за підтримки ДФФД МОН України.

Гринаш Т., Кузьмак М.

ВПЛИВ АНТИОКСИДАНТА АЦЕТАТУ α-ТОКОФЕРОЛУ НА ПЕРЕБІГ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ У ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ МОРСЬКИХ СВИНОК

Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка
вул. Івасюка, 11, м. Трускавець, 82200, Україна

З літературних даних (Адо В.А., 1985; Регеда М.С. та ін; 2004), відомо, що пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) е фізіологічним процесом метаболізму, яке відіграє важливу роль необхідної ланки життєдіяльності організму та його адаптивних реакцій. ПОЛ постійно відбувається в клітинних мембранах, здійснюючи важливу роль у відновленні чи заміні іх ліпідного складу, контролі активності мембранодіючих ферментів, супроводженні зсідання крові тощо. Надмірна його активізація може призвести до причини патогенезу цих захворювань, які аналогічні перетворенням стрес-синдрому з ланки адаптації в ланку патогенезу, що особливо проявляється при бронхіальній астмі.

Нами з метою визначення функціонального стану проксидантної та антиоксидантної систем досліджувались дієнові кон'югати, малоновий діальдегід, активність супероксиддисмутази і каталази у крові морських свинок, у яких експериментально викликали бронхіальну астму (ЕБА) за методом В.І. Бабич та В.В. Жолтвої (1974). У результаті досліджень було встановлено, що на 21–30-й день розвитку захворювання в сироватці крові морських свинок поступово зростала інтенсивність утворення ПОЛ. Так, вміст дієнових кон'югапв у крові морських свинок хворих на ЕБА в ранні (на 21 день від початку експерименту) та більш пізні

строки (на 30 день) розвитку експерименту суттєво підвищувався відповідно на 51,3 і 89,1%, а рівень малонового діальдегіду на 95,2 і 123,8% порівняно з контрольними тваринами. Одночасно слід відзначити, активність окремих ферментів антиоксидантної системи в крові морських свинок хворих на ЕБА значно зросла на дані строки експерименту (на 21-й та 30-й дні від початку досліду). Одержані результати проведених нами досліджень дають підставу стверджувати, що у морських свинок хворих на ЕБА розвиваються порушення бронхіального стану прооксидантно-антиоксидантної системи.

Підсумовуючи результати досліджень слід відзначити, що у морських свинок хворих на ЕБА вміст дієнових кон'югатів і малонового діальдепду в крові достовірно підвищувався, а активність супероксиддисмутази і каталази, навпаки, знижувався. Це безсумнівно свідчить про активізацію процесів пероксидного окиснення ліпідів та пригнічення ферментативної активності антиоксидантного механізму. Таким чином, одержані нами результати дозволяють зробити попередні висновки про те, що очевидно, для морських свинок хворих на ЕБА можна використовувати антиоксидант а-токоферол як препарат, який має коригуючий вплив на процеси пероксидації ліпідів і активність відповщних ферментів та рекомендувати його для комплексного лікування хворих на бронхіальну астму.

Добровольська Р.[1], Гошовська Ю.[2], Сагач В.[2]

ЗМІНИ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦІАЛУ МІТОХОНДРІЙ СЕРЦЯ ЩУРІВ ТА ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ РОЗ´ЄДНУВАЛЬНИХ БІЛКІВ В УМОВАХ СТАРІННЯ ТА ПІД ВПЛИВОМ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ

1) Національний університет "Києво-Могилянська Академія"
вул. Г. Сковороди, 2, Київ, 04655
2) Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця
вул. Богомольця, 4, Київ, 01024, Україна
raysik@yandex.ru

Робота серцевого м'яза зумовлюється здатністю мітохондрій генерувати мембранний потенціал, який значною мірою визначається ґрадієнтом протонів. Величина мембранного потенціалу мітохондрій є функціональною передумовою їхньої енергопродукуючої активності та відображенням спряженості окисного фосфорилювання. Однак мембранний потенціал може знижуватися не лише під час синтезу АТФ, але й внаслідок утворення мітохондріальних пор (mitochondrial permeability transition pore, MPTP) і активації роз'єднувальних білків (uncoupling proteins, UCP), коли синтезу АТФ не відбувається, а електрохімічна енергія ґрадієнта розсіюється у вигляді тепла. Відомо, що збільшення чутливості MPTP відбувається за різних фізіологічних станів: старіння, гіпоксія тощо. Водночас роль UCP у процесах синтезу АТФ залишається дискутивною: з одного боку, UCP здійснюють роз´єднання окисного фосфорилювання, дисипуючи енергію протонного ґрадієнта; з іншого – їхня активація запобігає надмірній продукції активних форм кисню дихальним ланцюгом, що має протекторний характер. Одним із найпоширеніших методів профілактики серцево-судинних захворювань є тренування фізичними навантаженнями. Ми припустили, що різні фізіологічні стани серця супроводжуються змінами протонної проникності мембран мітохондрій, що буде відображатися на мембранному потенціалі. Тому метою нашої роботи було вивчити зміни експресії генів UCP та мембранного потенціалу мітохондрій серця дорослих, тренованих плаванням та старих щурів.

У дослідженні використовували 3 групи щурів: дорослі (6 міс, n=12), дорослі треновані (6 міс, n=13), старі (24 міс, n=10). Групу тренованих щурів навантажували плаванням протягом 6 тижнів, щодня збільшуючи тривалість плавання протягом чотирьох тижнів (від 2 до 75 хв) та стабільним часом (75 хв) протягом наступних двох тижнів. Експресію генів UCP2 та UCP3 у тканинах серця вивчали за допомогою ПЛР-аналізу. Мітохондріальну фракцію виділяли методом диференційного центрифугування. Мембранний потенціал мітохондрій вимірювали за допомогою потенціометрії з використанням ліполітичного катіона триметилфенілфосфоніуму ($TPMP^+$) і розраховували за рівнянням Нернста.

Було показано, що при ініціації дихання сукцинатом натрію та одночасній блокаді АТФ-синтази олігоміцином мембранний потенціал мітохондрій дорослих щурів становив -156±3,5 мВ. У старих щурів це значення було достовірно нижчим і становило -146,5±3,2 мВ. Крім того, спостегіралося достовірне підвищення рівня мРНК UCP2 ($p<0,03$) у серці старих щурів, що свідчить про активацію UCP-залежного протонного витоку з віком. У дорослих тренованих щурів мембранний потенціал був достовірно вищий і становив -176,5±8,4 мВ, що вказує на збільшення спряження окисного фосфорилювання під дією тренувань. При цьому спостерігалося підвищення експресії гена UCP3 ($p<0,003$) без змін в експресії UCP2, що може свідчити про різну їх роль у функціонуванні серця за різних фізіологічних станів, а також про збільшення продукції оксиду азоту й активації антиоксидантних систем. Таким чином, наші результати свідчать про зміни UCP-опосередкованої протонної проникності мітохондріальних мембран і залежність мембранного потенціалу мітохондрій від функціонального стану серця та віку піддослідних тварин.

Забродський Р., Найдюк Я., Скобля Є., Бондаренко В.

ВПЛИВ МОДИФІКАТОРІВ ЦИТОСКЕЛЕТ–МЕМБРАННОГО КОМПЛЕКСУ НА СТАН ЕРИТРОЦИТІВ ЛЮДИНИ ПРИ ЗМІНІ ТЕПЕРАТУРНИХ І ОСМОТИЧНИХ УМОВ СЕРЕДОВИЩА

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
пл. Свободи 4, м. Харків, 61077, Україна
zabrodskiy_r@ukr.net

Особливість еритроцитів полягає у високій стійкості клітин до дії стресових факторів, що пов'язано з високою стабільністю їх цитоскелет-мембранного комплексу в умовах нормального кровотоку. Встановлено, що чутливість еритроцитів до механічного й осмотичного стресу залежить від об'єму, форми та характеру деформації мембрани.

Важливе значення у механізмах контролю стуктурної стабільності еритроцитів відіграють системи іонного транспорту - насамперед ті, що пов'язані з білком смуги 3, який виконує функцію іонного транспортеру. Чутливість еритроцитів до стресових впливів різко зростає в умовах дегідратації, яка призводить до реорганізації структури цитоскелетного комплексу та змін характеру асоціації білків цитоскелету і мембрани. Як наслідок, у клітинах зростає чутливість до зниження температури в інтервалі 37°–0° С (гіпертонічний кріогемоліз), переносу із гіпертонічного середовища в умовах з фізіологічними параметрами осмолярності (постгіпертонічний лізис) та переносу клітин із фізіологічних умов в умови гіпертонічної осмолярності (гіпертонічний шок).

Усі наведені вище варіанти температурно-осмотичної модифікації еритроцитів відіграють важливу роль у механізмі пошкоджень клітин різного походження, у тому числі в умовах низькотемпературної консервації, що робить еритроцит важливим модельним об'єктом для дослідження механізмів кріопошкодження при температурах вище 0°С.

Ми досліджували чутливість еритроцитів до гіпертонічного кріогемолізу при охолодженні клітин від 37°С до0° С в присутності 1,2 моль/л NaCl, а також при переносі із середовища 0,15 моль/л NaCl до 4,0 моль/л NaCl. Модифікацію клітин здійснювали кількома способами: у першому варіанті оцінювали стійкість клітин до стресу при дії інгібіторів транспорту аніонів, що впливають на білок смуги 3 (DIDS, SITS, фуросемід), у другому варіанті оцінювали дію аліфатичних спиртів – гексанолу та бутанолу, а також локальних анестетиків, таких, як лідокаїн; у третьому – здійснювали модифікацію цитоскелета шляхом зміни ступеня його гідратації при навантаженні глюкозою. Встановлено, що характер дії модифікаторів залежить від умов середовища та характеру стресового впливу. Так, модифікація цитоскелету при зміні його фазово-структурного стану при включенні глюкози підвищує чутливість клітин до гіпертонічного кріогемолізу на фоні суттєвого зменшеня чутливості гіпертонічного шоку. Подібний диференційний вплив схожий до дій інгібіторів транспорту аніонів. При дії інгібі-

торів транспорту аніонів має місце значне зниження рівня гіпертонічного кріогемолізу при охолодженні клітин у середовищі, що вміщує неелектроліт (сахароза) і менш виражений ефект у гіпертонічному електролітному середовищі (NaCl).

Вплив аліфатичних спиртів і анесетиків залежить від концентрації та певною мірою виявляється як фактор, що зменшує чутливість еритроцитів, як до гіпертонічного шоку так і до гіпертонічного кріогемолізу.

Звягінцева О., Клімова О.

ОЦІНКА ПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ МІКСФАКТОРА НА ЕКСПЕРЕМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ТОКСИЧНОМУ СТРЕСІ

ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії АМН України»
в'їзд Балакірєва, 1, 61018, м. Харків, Україна
o_zvyagintseva@mail.ru

Зараз вивчається протекторна дія різних біологічних сполук. Відомо цілий ряд протекторів, які можуть надавати протекторну дію відносно індукованої інтоксикації. Метою дослідження є вивчення протекторного ефекту після введення комплексу олигопептидів та олигонуклеотидів природного походження, отриманих з мікроорганізмів (міксфактор) у контролі та у експериментальних тварин при хронічній дії сірчанокислого купруму ($CuSO_4$).

Для дослідження використовували лабораторних щурів – тримісячних самців породи Вістар: 1 група – контрольна група тварин; 2 група – тварини, яким вводили міксфактор за допомогою зонду; 3 група – тварини, котрим вводили $CuSO_4$ внутричеревинно; 4 група – тварини, яким одночасно вводили $CuSO_4$ та міксфактор.

Для вивчення чинників, які свідчали про ступінь інтоксикації використовували імунологічні спектрофотометричні методи – визначення рівня циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), пептидів середньої молекулярної маси (ПСММ) та імуноглобулінів. Для дослідження співвідношення білкових фракцій у сироватці крові тварин використовували методи електрофорезу на ацетат - целюлозних плівках та в поліакриламідному гелі (ПААГ).

Досліджувані показники контрольної групи тварин відповідали діапазону норми.

В групі тварин, яким вводили міксфактор вміст ЦІК збільшився у 2 рази, а концентрація ПСММ та імуноглобулінів достовірно не змінилася. Ці зміни проходять на фоні зміни співвідношення білкових фракцій. Так, фракція альбумінів зменшилась на 23%, α1-, α2- і γ-глобулінові фракції збільшилися у 1,5 рази, а β- глобулінова фракція збільшилася на 20,3%. За допомогою електрофорезу в ПААГ були додатково виявлені дві низькомолекулярні фракції. Низькомолекулярна фракція 1 (НМФ1) зменшилася на 34,4%, а низькомолекулярна фракція 2 (НМФ2) збільшилася на 16,9% відносно контрольної групи. Під час та після експерименту тварини виглядали здоровими, були досить активними.

Після хронічної токсичної дії $CuSO_4$ у експериментальних тварин третьої групи виявили достовірне збільшення (більш ніж у 2 рази) концентрації ЦІК і ПСММ, а імуноглобулін G (Ig G) достовірно знизився у порівнянні з контрольною групою. Співвідношення білкових фракцій змінилося наступним чином: фракція α1 –глобулінів збільшилася у 1,76 рази, γ- глобулінів на 21,6%, а α2 – і β-глобулінові фракції зменшилися на 24,4% і 4,6% відповідно. Альбуміни залишались на рівні показників контрольної групи. НМФ1 збільшилася на 25,8%, а НМФ2 зменшилася на 3,1% відносно контрольної групи тварин. Стан щурів після експерименту був незадовільним, перші години після дії $CuSO_4$ повністю була утрачена рухливість, уповільнене дихання.

В четвертій групі експериментальних тварин, котрим вводили $CuSO_4$ на фоні введення міксфактору концентрація ПСММ була на рівні показників контрольної групи тварин, вміст ЦІК був вище показників контрольної групи у 2 рази, концентрація Ig A знизилася у 1,5 рази, а Ig G компенсаторно збільшився у 1,6 рази. Співвідношення білкових фракцій також змінилося: альбуміни знизилися на 19%, фракції α1- і γ-глобулінів збільшилися у 1,78 і 1,59 рази

відповідно, а α2- і β-глобулінові фракції збільшилися на 8,1% і 19,2%. Сумарно збільшилися НМФ1 і НМФ2 на 8,9%. Стан щурів після експерименту був задовільний, перші години після одночасної дії $CuSO_4$ та міксфактору вони були в'ялі та неактивні.

Низькомолекулярні фракції можуть представляти групу стресорних та адапторних білків. Стресорні білки можуть формуватися під дією токсичного $CuSO_4$, а під дією міксфактора можуть збільшуватися адапторні білки. Можливо ці білки свідчать про протекторну дію міксфактору.

Коркач Ю.[1], Присяжна О.[1], Коцюруба А.[2], Сагач В.[1]

МЕХАНІЗМИ ВАЗО- І КАРДІОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ПРЕПАРАТУ, ЩО МІСТИТЬ ЕКДИСТЕРОЇДИ, ПРИ РОЗВИТКУ ДІАБЕТУ І ТИПУ У ЩУРІВ

[1]Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України
вул. Богомольця, 4; м. Київ, 01024
[2]Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
вул. Леонтовича, 9; Київ, 01601, Україна
yulyahim@ua.fm

Відомо, що розвиток цукрового діабету I типу супроводжується порушенням de novo синтезу NO, яке зумовлює ендотеліальну дисфункцію і порушення скоротливої активності міокарда. Як показали наші попередні дослідження, C_{27}- стероїдний гормон екдистерон (природний аналог кальцітриолу – 1α,25-дигідроксивітаміну D_3) крім антиоксидантних проявляє властивівсть модулятора синтезу NO, cGMP та інших вторинних месенджерів, внаслідок чого активуються різні сигнальні каскади, які, у свою чергу, можуть активувати як Ca^{2+}-залежний і незалежний конститутивний синтез NO (eNOS та nNOS), так і Ca^{2+}–незалежний індуцибельний синтез NO (iNOS) за рахунок фосфорилювання протеїнкіназою PKB/Akt. Отже, враховуючи потужну дію екдистерону на метаболізм NO, є доцільним дослідити дію водного екстракту, виділеного із квіткових кошиків рослини Serratula coronata (препарату «Біотонік»), що містить екдистероїди (до 5% сухої маси екдистерону) та флавоноїди (більше 5% сухої маси кверцетину) в режимі профілактики і лікування шляхом визначення ендотелійзалежного механізму судинної реактивності та дослідження біохімічних показників, що характеризують синтез оксиду азоту й окисний метаболізм у клітинах серцево-судинної системи щурів з експериментальним цукровим діабетом.

Дослідження проводили в гомогенатах серця і аорти щурів-самців лінії Вістар віком 4 міс., яким для відтворення моделі цукрового діабету I типу вводили стрептозотоцин ("Sigma", США) з розрахунку 50 мг/кг. Препарат "Біотонік" тварини отримували шляхом його додавання до питної води (1 мкг/100 гр) за різних умов експерименту. Одна група тварин отримувала препарат одночасно із стрептозотоцином (режим профілактики), тоді як другій групі тварин давали "Біотонік" протягом 14 днів, після розвитку діабету (режим лікування). Біохімічні дослідження по визначенню активності різних ізоформ NO-синтаз, НАДН-залежної нітратредуктази і аргінази, метаболітів NO (NO_2^-, NO_3^-) та показників окисного стресу (H_2O_2, $^*OH$, O_2^{*-}) проводили через добу після останнього введення препарату "Біотонік" та визначали спектрофотометрично. При вивченні скорочувальної реакції гладеньких м'язів (ГМ) аорти реєстрували зміни її тонічного напруження на ацетилхолін гідрохлорид ("Flüka", Швеція). Рівень скорочення ГМ на норадреналін приймали за 100%. Контроль глюкози крові здійснювали за допомогою глюкометра "Медісенс" ("Abbott", США).

Встановлено, що введення препарату "Біотонік", особливо в режимі профілактики, за рахунок інгібування активності iNOS, нітратредуктази і аргінази та, навпаки, стимуляції активності конститутивного синтезу NO, а також зменшення інтенсивності утворення радикалів кисню в органах кардіоваскулярної системи, призводить до нормалізації рівнів глюкози і відновлення ендотелій-залежних реакцій ГМ аорти щурів з експериментальним діабетом.

Кот К.[1], Соколик О.[2], Козін Ю.[3], Дюбко Т.[4], Зінченко В.[4]

ВПЛИВ ОЗОНУВАННЯ КРОВІ НА БЕТА-АДРЕНОРЕАКТИВНІСТЬ ЕРИТРОЦИТІВ У ПАЦІЄНТІВ З УРОГЕНІТАЛЬНИМИ ІНФЕКЦІЯМИ

[1] Харківський національний університет ім. В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, м. Харків, 61077;
[2] ДНУ НТК "Інститут монокристалів НАН України", пр. Леніна, 60, м. Харків, 61001;
[3] Харківський національний медичний університет,пр. Леніна, 4, м. Харків, 61022;
[4] Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України,
вул. Переяславська, 23, м. Харків, 61015, Україна;
tdyubko@mail.ru

За останні 15 років при лікуванні пацієнтів, які страждають на хронічні урогенітальні інфекції, в харківських медичних закладах успішно застосовують метод фізико-хімічної імунокорекції – озонотерапію. Експериментально-клінічні дослідження підтвердили імунокорегуючий вплив озонотерапії на всі основні ланки імунітету (клітинну, гуморальну, мононуклеарно-фагоцитарну, інтерферонову). Становить також певний інтерес з′ясування питання про вплив процедур озонотерапії на активність симпато-адреналової системи (САС) організму. Оскільки чутливість β-адренорецепторів еритроцитів може змінюватися при адаптації організму до умов зовнішнього середовища, при формуванні стресорної реакції та різноманітних патологічних станах, оцінка рівня адренореактивності організму по зміні осморезистентності еритроцитів у присутності β-адреноблокатора (визначення показника β-АРМ) може виявитися чутливим індикатором стану САС при проведенні процедур озонотерапії. У теперішній час також остаточно не вирішено питання вибору методів визначення індивідуальної дози озону для проведення процедур ОФР (введення в русло крові озонованого фізіологічного розчину) і ВАГОТ (велика аутогемоозонотерапія) при різних захворюваннях і питання експрес-оцінки її ефективності.

Об'єктом дослідження були еритроцити крові пацієнтів, які проходили курс озонотерапії у Харківському протиболевому центрі (14 чол). Як β-адреноблокатор використовували пропранолол.

Встановлено, що після проведення процедур озонотерапії (ОФР, ВАГОТ) у частини пацієнтів (63%) показник β-АРМ достовірно знижувався, що свідчить про підвищення β-адренореактивності організму і корелює з підвищенням механічної резистентності еритроцитів. У частини пацієнтів (26%) після процедур озонотерапії показник β-АРМ не змінився, що може, на наш погляд, свідчити про недостатність дози озону, яку було застосовано при процедурах. У частини пацієнтів (11%) після процедур озонотерапії на етапі інкубації еритроцитів з пропранололом був відмічений підвищений рівень спонтаного гемолізу порівняно з контрольними пробами. Це може бути свідченням порушення проникності мембран еритроцитів у результаті дії β-адреноблокатора на сенсибілізовані озоном клітини. Знайдений ефект, ймовірно, може бути використаний для визначення індивідуальної терапевтичної дози озону для даного пацієнта.

Лавінська О., Клімова О.

ВИКОРИСТАННЯ ТЕСТУ ЛІМФОЦИТОТОКСИЧНОСТІ ТА КЛІТИННОЇ ТЕСТ-СИСТЕМИ ДЛЯ ОЦІНКИ КОМПЛЕКСУ ТОКСИЧНИХ КОМПОНЕНТІВ ПАТОЛОГІЧНОЇ СИРОВАТКИ КРОВІ

ДУ „Інститут загальної та невідкладної хірургії" АМН України
в'їзд Балакірєва, 1, м. Харків, 61018, Україна
lavinskaya_5@mail.ru

При різних патологічних станах в організмі можуть накопичуватися цитотоксичні компоненти різної природи. Такі речовини можуть бути як кінцевими, так і проміжними продуктами при порушенні метаболізму. Відхилення від нормальних анаболічних та катаболічних процесів може призводити до підвищення концентрації токсичних метаболітів. Тому є актуальними ме-

тоди селективного визначення різних за розміром и функціями органічних речовин потенційно токсичних для організму в біологічних рідинах. Існують класичні методи визначення токсичності патологічних сироваток крові при різних захворюваннях. Це визначення лімфоцитотоксичності за класичним методом Терасакі (1964) - оцінка ступеня нативності мембран лімфоцитів під дією сироваткових компонентів. Для біоіндикації цитотоксичних сироваткових компонентів авторами розроблена клітинна тест-система на основі водорості *Dunaliella viridis* (Клімова та ін., 2006). Представляє певний науковий та практичний інтерес порівняльний аспект діагностичної значимості наведених методів. Тому метою роботи було порівняння діагностичних можливостей двох методів – методу лімфоцитотоксичності та біоіндикації чутливості клітинної тест-системи під дією цитотоксичних компонентів патологічних сироваток.

В роботі використовували патологічні сироватки крові (гострий варікотромбоз, біліарний цироз, панкреанекроз, міастенія, опіки). Сироватка здорових донорів слугувала контрольною групою порівняння. Лімфоцитотоксичність визначали за методом Терасакі, принцип якого полягає в тому, що пошкоджені клітини за участі комплементу пропускають барвник, який забарвлює цитоплазму у фіолетовий колір, з наступним мікроскопіюванням. Для біоіндикації використовували культуру синхронізованої одноклітинної водорості *D. viridis*. Після інкубації клітинної завісі з досліджуваною сироваткою проводили підрахунок клітин зі зміненими морфо-функціональними показниками і порівнювали з контрольною групою. Наступним етапом оцінки цитотоксичності був розрахунок коефіцієнтів індукованої цитотоксичності (Клімова та ін., 2009).

Спонтанна лімфоцитотоксичність в контрольній групі складала в середньому (20±1,72)%. Лімфоцитотоксичність в патологічних сироватках коливалась в діапазоні від (39±2,53)% до (58±5,7)% в сироватках з гострими варікотромбозами та біліарним цирозом відповідно. В результаті біоіндикації з використанням клітинної тест-системи виявлено достовірне зростання коефіцієнтів індукованої цитотоксичності в усіх патологічних сироватках, у порівнянні з контрольним значенням ($К_Ц$ = 0,57±0,4). Зростання коефіцієнта сироваткової цитотоксичності у 23 і 20 разів, виявлено в сироватках із біліарним цирозом (13,01±1,01) і міастенією(11,6±0,76) відповідно. В патологічних сироватках, які отримали від хворих з гострими варікотромбозами цей показник був найменшим і перевищував контрольне значення в 10 раз (5,65±0,66).

Отримані однонаправлені зміни індукованої токсичності патологічних сироваток, які виявлені за допомогою тесту лімфоцитотоксичності та клітинної тест-системи *D. viridis*. Підвищення лімфоцитотоксичності супроводжувалось збільшенням кількості морфофункціонально змінених клітин тест-системи. Найбільша схожість результатів виявлена відносно міастенії та біліарного цирозу. Тобто, це свідчить про присутність в патологічних сироватках факторів, які спричиняють токсичну дію на лімфоцити. Розраховані коефіцієнти сироваткової цитотоксичності значно перевищували контрольне значення, що дозволяє використовувати їх в оцінці сумарної цитотоксичності в біологічних рідинах.

Мерлавський В., Манько Б., Клевець М., Манько В.

ВПЛИВ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ІНСУЛІНУ НА ДИХАННЯ ІЗОЛЬОВАНИХ ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
mevem@ukr.net

Інсулін є одним із загальновідомих регуляторів метаболізму печінки. Але дані щодо впливу цього гормона на процеси окислення у гепатоцитах є суперечливими. У попередніх дослідженнях нами встановлено, що одноразове введення інсуліну щурам *in vivo* стимулює дихання клітин печінки (Мерлавський та ін., 2009). Ми вирішили перевірити, чи будуть спостерігатись подібні зміни поглинання кисню інтактними та пермеабілізованими гепатоцита-

ми за тривалого введення цього гормону. За таких умов, як відомо, можливий розвиток резистентності до інсуліну (Patti, Corvera, 2010), яка проявляється у порушенні засвоєння глюкози тканинами організму. Тому перед дослідженням процесів дихання гепатоцитів ми провели тест толерантності тварин до глюкози.

Дослідження проводили на статевозрілих самцях масою 180–220 г. Тваринам дослідної групи протягом шести днів вводили інсулін пролонгованої дії МОНОДАР Б (0,5 од./100 г маси тіла), а контрольної – фізіологічний розчин. На сьому добу проводили тест толерантності до глюкози. Перед тестом щурів не годували протягом 12-ти год. Тваринам вводили внутрішньочеревно глюкозу (3 мг/г маси тіла), розчинену у 2 мл 0,9%-го розчину NaCl. Кров відбирали, надрізаючи шкіру на кінчику хвоста. Концентрацію глюкози визначали за допомогою глюкометра *One Touch Ultra Easy* до її введення та через 30, 60, 90 і 120 хв після введення. Після цього щурів наркотизували діетиловим ефіром і декапітували. Гепатоцити ізолювали методом перфузії печінки розчином колагенази (120 од./мл) за методом Сеґлена (Seglen, 1976). Базове позаклітинне середовище містило (ммоль/л): NaCl – 140,0, KCl – 4,7, $CaCl_2$ – 1,3, $MgCl_2$ – 1,0, HEPES – 10,0, глюкоза – 5,0; pH 7,4. Кількість клітин у суспензії обчислювали з використанням камери Горяєва. Для перевірки цілісності плазматичної мембрани гепатоцити фарбували 0,1%-м розчином трипанового синього. Клітини пермеабілізували у внутрішньоклітинному розчині, що містив дигітонін (20 мкг/10^6 клітин) 10 хв. Внутрішньоклітинний розчин мав наступний склад (ммоль/л): NaCl – 15,0, KCl – 90,0, KH_2PO_4 – 2, $MgCl_2$ – 1,0, HEPES – 10,0, EGTA – 0,5; pH 7,2. Усі маніпуляції виконували при температурі 37°C. Швидкість поглинання O_2 гепатоцитами визначали полярографічним методом. Як субстрати окиснення використовували альфа-кетоглутарат (1 ммоль/л) або сукцинат (0,35 ммоль/л). На основі полярографічних записів розраховували швидкість поглинання кисню. Дихання стимулювали додаванням 1,2 мкмоль АДФ.

За шестиденного введення інсуліну швидкість дихання інтактних гепатоцитів щурів дослідної групи не відрізнялась від аналогічних показників тварин контрольної групи. Так само не спостерігалося різниці між показниками швидкості поглинання кисню пермеабілізованими гепатоцитами дослідної та контрольної груп тварин ні за окислення ендогенних субстратів, ані при внесенні екзогенних альфа-кетоглутарату чи сукцинату, незалежно від наявності в середовищі інкубації АДФ.

У щурів дослідної групи рівень глюкози у крові через 30 і 90 хв після введення був вищим, ніж у тварин контрольної групи. Через 60 і 120 хв після введення цей показник не відрізнявся в обох груп щурів. Це свідчить про часткове порушення здатності тканин дослідних тварин засвоювати глюкозу.

Можливим поясненням отриманих нами результатів є виникнення резистентності до інсуліну в щурів через тривалу гіперінсулінемію. Це припущення частково підтверджується певними порушеннями толерантності до глюкози у тварин дослідної групи.

Німилович М.

ГРИБКОВІ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЮДИНИ

Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка
вул. В. Івасюка, 11, м. Трускавець, 82200, Україна
bioddpu@ukr.net

На сьогоднішньому етапі розвитку людська цивілізація все частіше стикається з проблемою грибкових захворювань (мікозів). Згідно з даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, ними страждає кожен четвертий житель планети, незалежно від віку. Мікози можуть оселятися на поверхні шкіри, на слизовій оболонці внутрішніх органів або уражати весь організм людини. Причинами широкого розповсюдження грибкових захворювань є підвищена пітливість, механічні ушкодження шкіри, носіння тісного взуття, патологія ендокринної системи, дисбактеріоз, імунодефіцитні стани. Усі ці перелічені причини, на жаль, спостерігають-

ся у суспільстві. Ситуація ускладнюється надмірним забрудненням навколишнього середовища. Небезпека грибкового ураження в тому, що організм пробує боротися з ним, залучаючи ланцюги імунітету, та у разі відсутності своєчасного лікування імунітет знижується, і грибкове ураження генералізується.

Мета роботи: розглянути мікози людини, шляхи зараження, лікування і профілактику.

Широкому розповсюдженню мікозів сприяють особливості грибків: здатність розвиватися у нейтральному чи слабколужному середовищі, стійкість до дії низьких температур, висушування, сприятливим фактором є висока вологість (Шеклаков, 1970; Пяткин, 1980).

Грибкові захворювання шкіри поділяють на чотири групи: кератомікози, дерматофітії, кандидози, глибокі мікози. Збудників захворювань даних груп прийнято поділяти на умовно-патогенні (рід *Candida*) і абсолютно патогенні (рід *Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton*) (Шеклаков, 1970).

Абсолютно-патогенні збудники мікозів спричиняють епідермофітії, оніхомікоз, різноколірний лишай та інші. Умовно-патогенні збудники викликають за зниження захисних сил організму кандидози, які поділяють на поверхневі та глибокі. Особливого загострення мікози досягають у ВІЛ-інфікованих і хворих на СНІД, що пов'язано з ураженням імунної системи (Кашкин, 1978; Кубась,1994).

До групи глибоких мікозів належать хромомікоз, глибокі бластомікози шкіри. Дані захворювання характеризуються важким перебігом, ураженням багатьох внутрішніх органів. Їх виникнення пов'язане або із зниженням імунітету, або носить ендемічний характер [Шеклаков, 1970; Пяткин, 1980].

Сьогодні є багато видів лабораторної діагностики мікозів: мікроскопічні дослідження, культуральна діагностика, внутрішньошкірні проби, полімеразна ланцюгова реакція, серологічні реакції. Лабораторна діагностика проводиться з метою попередження виникнення резистентних штамів грибків до певного препарату. Після встановлення збудника захворювання призначається адекватне лікування. На сьогоднішній день існує широкий спектр антимікотичних засобів. Серед них є препарати місцевого застосування та загальної дії (Машкилейсон, 1985).

До факторів, що істотно впливають на появу грибкових захворювань у людини є порушення обміну речовин, імунодефіцитні стани, захворювання судин і периферичної нервової системи, наявність травм, тривале вживання антибіотиків, важкі захворювання, ВІЛ-інфекція, критичними є період вагітності й післяродовий період (Машкилейсон, 1985).

До заходів профілактики можна віднести: дотримання правил особистої гігієни, використання індивідуального взуття при відвідуванні саун, басейнів, бань; слід стежити за станом власного здоров'я, при перших симптомах захворювання звертатися до лікаря, необхідно дотримуватися правил догляду за хворим, а за необхідності провести ізоляцію хворого (Машкилейсон, 1985).

Перхулин Н., Глов'як А., Господарьов Д.

КРИВІ ВИЖИВАННЯ ТА РУХОВА АКТИВНІСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER* З РІЗНИМИ ГЕНОТИПАМИ

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника
вул. Шевченка, 57, Івано-Франківськ, 76025,Україна
gospodaryov@rambler.ru

На сьогодні вплив генотипу на демографічні показники популяції (середню, медіанну та максимальну тривалості життя) залишається одним із питань, якому присвячується більшість робіт у геронтології та популяційній генетиці. Проте, у геронтології для повнішої характеристики процесу старіння в когорті особин визначають також вікову динаміку низки фізіологічних показників. Одним із таких показників є рухова активність організму, яка з віком знижується, а отже, може свідчити про характер старіння на фізіологічному рівні.

Метою нашої роботи було проаналізувати вплив генотипу на зміни вікової динаміки і рухової активності в когортах *Drosophila melanogaster*. Окрім того, за допомогою рівняння

Гомпертца, яке описує криву смертності популяції, був оцінений вплив генотипу на смертність у «молодому» віці (незалежну від віку) та «швидкість старіння», або залежну від віку смертність. У дослідженні використовували лінії CantonS і CS^{NF} та сконструйовані на їх основі лінії Syn^{97CS} та $Sap^{47/156}$, особини яких, відповідно, дефектні за синапсином та «білком, пов'язаним із синапсами» (SAP – synapse-associated-protein). Культури мушок утримували на середовищі, яке містило 4% (об.) меляси, 6% г пекарських дріжджів, 1,3% агар-агару та 0,4% пропіонової кислоти. У всіх дослідах мух утримували при температурі 26°C і постійному освітленні. Кожен другий день мушок пересаджували на свіже живильне середовище і підраховували кількість живих особин. Індуковану рухову активність оцінювали за відсотком особин, які за 20 с подолали відстань 5 см догори по стінці пробірки після легкого струшування. Даний тест проводили періодично з інтервалом 4 доби впродовж 27 діб.

Найбільша різниця спостерігалася між самцями ліній CantonS і Syn^{97CS}. Зокрема, когорта самців лінії Syn^{97CS} мала, відповідно, на 18, 13 та 31% менші середню, медіанну та максимальну тривалості життя. Проте у самок Syn^{97CS} середня і медіанна тривалості життя практично не відрізнялися від таких у самок лінії CantonS, хоча максимальна тривалість була на 16,5% менша. Між тривалістю життя когорт ліній CS^{NF} та $Sap^{47/156}$ не спостерігалося істотної різниці. Так, самці лінії $Sap^{47/156}$ мали тільки на 3,2, 4,8 та 1,5% менші середню, медіанну та максимальну тривалості життя, ніж самці батьківської лінії CS^{NF} відповідно. У самок $Sap^{47/156}$ середня, максимальна та медіанна тривалості життя були, відповідно, на 9,0, 1,6 та 6,0% меншими, ніж у самок CS^{NF}. Втім, варто зауважити, що самці та самки лінії Syn^{97CS} мали в 4,7 та 2,1 раза меншу смертність у «молодому» віці, ніж особини батьківської лінії CantonS. Проте швидкість старіння у самців і самок дрозофіли, дефектних за синапсином, була в 2,1 та 1,5 раза вища, ніж у особин лінії CantonS. Таким чином, менша тривалість життя когорт *D. melanogaster* лінії Syn^{97CS} зумовлена не підвищеною смертністю особин у ранньому віці, а більшою швидкістю старіння кожної особини. Для особин лінії $Sap^{47/156}$ спостерігалася протилежна картина: самці і самки цієї лінії мали в 1,6 та 3,8 раза більше значення A і в 1,1 та 1,6 разу менше значення α, ніж, відповідно, самці та самки лінії CS^{NF}.

Рухливість усіх когорт *D. melanogaster* знижувалася з віком. Найдовше високу рухову активність зберігали особини CantonS і Syn^{97CS}. Зокрема, самці лінії CantonS мали вищу рухливість упродовж всього спостереження. Проте самки лінії Syn^{97CS}, порівняно з самками CantonS, мали достовірно вищу активність на 7-й та 15-й дні життя. Між індукованою руховою активністю особин ліній CS^{NF} та $Sap^{47/156}$ виявлена істотна різниця на 3-й день життя. Втім, варто зауважити, що когорта самок $Sap^{47/156}$ мала нижчу активність від CS^{NF}, проте у самців спостерігалася протилежна тенденція.

Таким чином, нестача білка синапсину призводить до істотного зниження максимальної тривалості життя особин *Drosophila melanogaster*, тоді як нестача «білка, пов'язаного з синапсами», не призводить до значного зниження середньої, медіанної та максимальної тривалості життя *Drosophila melanogaster*, проте підвищує незалежну від віку смертність.

Ровенко Б.

ВУГЛЕВОДНА ДІЄТА МОЖЕ СПРИЧИНЮВАТИ МЕТАБОЛІЧНИЙ СИНДРОМ У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Прикарпатський національний університет ім. Василя Стефаника
вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76000
bohdanarovenko@gmail.com

Метаболічний синдром – системне захворювання організму людини і тварин, яке проявляється в ожирінні, гіпертригліцеридимії, підвищенні рівня сечової кислоти у крові, інсуліновій резистентності й може бути попередником ряду вікових захворювань. У лабораторних умовах метаболічний синдром викликають посиленим споживанням вуглеводів, зокрема, фруктози. Досі метаболічний синдром вивчали, в основному, на ссавцях, проте й надалі

залишається актуальним пошук інших біологічних моделей. У даній роботі була зроблена спроба використати як модельний об'єкт плодову мушку *Drosophila melanogaster*. З цією метою особини *Drosophila melanogaster* лінії Canton S вирощували на агаризованих живильних середовищах із 0,25, 1, 4, 10 і 20% фруктози і глюкози. Експериментальне середовище також містило 4% дріжджів та 0,4% пропіонової кислоти. Для оцінки можливості виникнення метаболічного синдрому у дводенних мух, що розвивалися за вказаних умов, визначали середню масу тіла, загальний вміст ліпідів, накопичення глікогену і загального білка. За контроль було взято дієту з найнижчим вмістом вуглеводів у середовищі (0,25%).

Результати досліджень показали, що при найвищому (20%) вмісті вуглеводів у середовищі маса тіла самців і самок плодової мушки була вищою порівняно з контролем в 1,3 та 1,4 разу відповідно, і такі зміни не залежали від виду вуглеводу в середовищі. Загальний вміст ліпідів у особин, що розвивалися на дієтах із 20% фруктозою і глюкозою, був у 7,5 та 4 рази вищим порівняно з контрольними групами самців і самок. Вміст глікогену у мух, що розвивалися на живильних середовищах з 20% вуглеводів, приблизно у 5 разів перевищував контрольні значення даного показника в особин обох статей. Вміст загального білка був вищим на 20% у самців і на 30% у самок, і так само, як і інші показники, не залежав від виду вуглеводу в дієті.

Таким чином, отримані результати дають підстави припускати, що плодова мушка *Drosophila melanogaster* може слугувати моделлю у дослідженнях, пов'язаних із вивченням метаболічного синдрому в лабораторних умовах, незважаючи на те, що в природних біотопах основним джерелом їжі для неї є вуглеводи.

Семенихіна О., Базілюк О., Сагач В.

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ТА МЕХАНІЗМІВ ВПЛИВУ СІРКОВОДНЮ НА СКОРОЧУВАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ РІЗНИХ СУДИН ЩУРІВ

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України
вул. Богомольця, 4, Київ, 01024
elenasemenikhina@mail.ru

Нещодавно з'явилися дані, які дозволяють розглядати сіководень як новий газотрансмітер, що ендогенно утворюється у тканинах ссавців, у тому числі і у серцево-судинній системі. Проте сьогодні недостатньо вивчено його роль та механізми реалізації у різних регіонах судинного русла. Метою даної роботи було дослідити вплив донора сірководню NaHS на скорочувальну активність гладеньких м'язів (ГМ) різних судин щурів.

Дослідження проведено на ізольованих препаратах ворітної вени (n=9) та грудної аорти (n=13) щурів з інтактним ендотелієм та після механічного вилучення ендотелію й адвентиції (n=16).

На ГМ ворітної вени, попередньо активовані 0,8 М розчином KCl, послідовно впливали донором сірководню NaHS у зростаючих концентраціях. Виявилося, що сірководень спричинює розслаблення ГМ ворітної вени. Так, при концентрації NaHS 10^{-4} моль/л амплітуда розслаблення становила 20,4±8,5% (від заданого рівня активації), а при концентрації 10^{-3} моль/л вона сягала 131,8±47,1%. У дослідах на деендотелізованих препаратах амплітуда розслаблення ГМ ворітної вени на донор сірководню у концентраціях 10^{-4} і 10^{-3} моль становила 17,5±4,3 і 126,3±22,6% відповідно. Встановлено також, що NaHS у концентрації 10^{-4} моль викликає різноспрямовану реакцію у преактивованих норадреналіном ГМ грудної аорти. Так, у 50% реєструвалося скорочення ГМ на 136,4±20,7%; у 25%, навпаки, їх розслабення на 25,5±5,25%, у решті дослідів змін тонічного напруження ГМ за дії сірководню у цій концентрації не виявлено. При збільшенні концентрації донора до 10^{-3} моль/л спостерігалося тільки розслаблення ГМ з амплітудою 82,15±10,1%. Ця реакція повністю відтворювалася на деендотелізованих препаратах грудної аорти і частково при блокаді синтезу оксиду азоту. Після механічного вилучення адвентиції грудної аорти у 69% дослідів розслаблення ГМ за дії донора сірководню NaHS у концентрації 2×10^{-3} моль/л було відсутнє. У решти воно реєструвалося, але не перевищувало 20%.

Отримані дані свідчать про те, що великі концентрації сірководню викликають переважно розслаблення ГМ грудної аорти та ворітної вени щурів, і в його реалізації беруть участь чинники, що розташовані у зовнішньому шарі судини – адвентиції. Також виявилося, що розслаблення є незалежним від ендотелію. Поряд із тим, передбачається наявність зв'язку, а, можливо, і взаємодії сірководню з оксидом азоту. Констрикторна реакція ГМ на донор сірководню, ймовірно, є доказом прямого інгібуючого впливу на eNOS. Отже, неорганічний водорозчинний газ сірководень подібно впливає на реактивність судин, що належать до різних регіонів, а, відтак, відіграє суттєву роль у регуляції тонусу судин.

Скарбек С., Максимів І., Щипанська Н., Рябкіна А., Лозінський О.

ВПЛИВ НІТРОПРУСИДУ НАТРІЮ НА РОЗВИТОК ТА ВИЖИВАННЯ ЛИЧИНОК *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Прикарпатський національний університет ім. Василя Стефаника
вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76000, Україна
skarbek.s@ukr.net

Плодові мушки роду *Drosophila* є детально вивченим у генетичному аспекті об’єктом. Зокрема, для цього організму повністю складені карти хромосом, встановлено локалізацію більшості генів, ідентифіковано їхні продукти. Завдяки цьому, види *Drosophila* широко використовуються для вивчення проблемних питань біології розвитку, фізіології та еволюції. Drosophila melanogaster є також зручним об’єктом у дослідженні впливу різних факторів середовища на тваринний організм, в тому числі і дії на нього різних видів ксенобіотиків.

Метою даної роботи було дослідження впливу ксенобіотика – нітропрусиду натрію на розвиток, виживання *D. melanogaster* і активність аконітази, алкогольдегідрогенази і каталази. Об’єктом дослідження були мухи лінії W^{1118}. Для отримання експериментального матеріалу мухи від стадії яйця до імаго розвивалися на вуглеводо-дріжджовому середовищі з додаванням різних концентрацій нітропрусиду натрію (0–1,5 мМ). Активність аконітази, алкогольдегідрогенази та каталази визначали загальноприйнятими методами. Розвиток *D. melanogaster* оцінювалося як відсоток лялечок, які розвинулися після внесення яєць у кількості 150 штук на 20 мл середовища з різними концентраціями ксенобіотика. Виживання оцінювалось як відсоток виходу мух, які розвинулися після внесення личинок (90±1 год) у кількості 40 штук на 20 мл середовища з різними концентраціями нітропрусиду натрію

Життєздатність личинок при високих концентраціях нітропрусиду натрію значно менша порівняно з контрольним значенням. При концентрації нітропрусиду натрію 0,01мМ картина істотно не змінюється, а при концентрації 0,1 мМ пік лялькування змістився на 24 години, при концентрації 1мМ на 48 годин, а при концентрації 1,5 мМ розвиток затримався на 72 години порівняно з контрольним значенням. Це пов’язано з тим, що нітропрусид натрію негативно впливає на життєздатність комах, що пов’язано з активацією процесів окисного пошкодження білків тканин дрозофіл. Існує група маркерів, за допомогою яких дуже легко оцінити інтенсивність дії стресового фактора. До цієї групи відносять білки-ферменти, активні центри яких чутливі до окисної модифікації. До таких ферментів належить аконітаза. Так, активність аконітази за дії нітропрусиду натрію значно зменшується. Порівняно з контрольним значенням, у самців при концентрації 0,01 мМ нітропрусиду натрію активність аконітази знижується в 1,1 разу, а при концентрації 1,5 мМ в 1,3 разу. У самок ці дані відрізняються. При концентрації 0,01 мМ нітропрусиду, активність аконітази знижується в 1,1 разу, при 1 мМ в 1,2 рази, а при 1,5 мМ в 1,3 разу (40%). Слід зауважити, що прослідковується чітка позитивна кореляція між активністю аконітази та виживанням *D. melanogaster*. Так, відсоток виходу мух за дії нітропрусиду натрію у концентрації 1-1,5 мМ становив 45%. Активність каталази була вищою за дії низьких концентрацій ксенобіотика і знижувалася за дії високих концентрацій. Алкогольдегідрогеназа була вищою порівняно з контролем тільки у самок, тоді як у самців змін в активності даного ферменту не спостерігалося.

Юркевич І., Крищук Н., Лущак О.

ВПЛИВ ВУГЛЕВОДНОЇ ДІЄТИ НА ЧУТЛИВІСТЬ ДО ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ ПЛОДОВОЇ МУШКИ

Прикарпатський національний університет ім. Василя Стефаника
вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76000, Україна
streetman-rss@mail.ru

Дослідження факторів, які спричинюють зміни окисно-відновного балансу клітин, показують їх важливу роль у багатьох патологічних процесах, а саме в тих, що відповідають за старіння організму. Однією із речовин, яка здатна змінювати окисно-відновний баланс, є менадіон або вітамін K_3. Метою даної роботи було оцінити виживання особин *Drosophila melanogaster* за умов стресу, викликаного менадіоном, протягом всього періоду життя при утриманні на різних вуглеводних дієтах.

У дослідженні використовували *Drosophila melanogaster* лінії IF. Мухи розвивалися на середовищі, яке містило 4% меляси, 6% дріжджів, 1,3% агар-агару та 0,4% пропіонової кислоти. Дорослих особин утримували на середовищі з 0,25% дріжджового екстракту, 1,3% агар -агару, 0,4% пропіонової кислоти та 6 і 10% фруктози, глюкози, еквімолярної суміші фруктози і глюкози та сахарози. Мух переносили на експериментальне середовище із 4 мМ менадіоном і відповідним відсотком вуглеводу на 10-ту, 20-ту, 30-ту, 40-ву, 48-му, 56-ту і 62-гу добу життя і підраховували кількість особин, що вижили на 48-му годину експозиції. За контроль приймали максимальне виживання особин (100%).

Результати досліджень показали, що виживання особин на середовищі з менадіоном знижується з віком і залежить від виду вуглеводу в дієті. Так, відсоток самців, що вижили на 48-му годину утримання з 4 мМ менадіоном і 6% сахарозою був найнижчим (50%), вже починаючи з 30-ї доби життя мух. У самок при 6% вуглеводній дієті найнижче виживання за умов стресу, спричиненого менадіоном, спостерігали для тих, які утримувалися на фруктозо-глюкозній дієті. У самців, які утримувалися на середовищах із 10% вуглеводів, найбільше виживання спостерігалося до 40-ї доби життя на дієті із сумішшю глюкози та фруктози, а найнижче із глюкозною дієтою. Дієта з 10% сумішшю глюкози і фруктози спричинювала різке зниження виживання самок (на 40%) вже з 20-ї доби життя.

Виживання особин *Drosophila melanogaster* за умов стресу, викликаного менадіоном, на різних вуглеводних дієтах залежало також і від концентрації вуглеводу в середовищі. Зокрема, самці, які споживали 6% фруктозу і глюкозу на 30-ту, 40-ву та 56-ту добу життя у 2,7, 1,5 та 7,5 разу відповідно мали вище виживання порівняно зі самцями із 10% вказаних вуглеводів. У самок, навпаки, трохи вище виживання мали особини, які утримувалися на дієтах з 10% фруктози і глюкози. При споживанні сахарози й еквімолярної суміші фруктози та глюкози у концентрації 6 і 10% достовірної відмінності у виживанні самців за умов стресу, викликаного менадіоном, не виявлено. У самок найкраще виживали особини, які утримувалися на дієтах з 10% сахарози та еквімолярної суміші фруктози і глюкози.

Таким чином, стійкість самців і самок до стресу, спричиненого менадіоном, знижується з віком і залежить як від типу вуглеводів у середовищі, так і від їх концентрації.

Gadomska M., Kojder B., Nowacka-Chiari E.

SELECTED MEASUREMENTS OF FATNESS AND PHASES OF THE MENSTRUAL CYCLE AMONG STUDENTS OF ZIELONA GORA UNIVERSITY

University of Zielona Góra
ul. Prof. Z. Szafrana, 1, Zielona Góra 65-516, Poland
echiari@wnb.uz.zgora.pl

In this work statement was formed- Is it possible to register distinctive dissimilarities in young women body composition (characterized with Body Impedance Analysis- BIA) related to phase of menstrual cycle.

Body Impedance Analysis (BIA) is a non- invasive method of diagnostic research that enables exact analysis of body composition using organism tissues electric impedance. This method uses muscular tissue electric conduction. BIA allows to define water and fat tissue content, and individual level of primary metabolism in organism. It can also reveal some factors influence on direction of body components change.

With BIA method 30 female students studying on University of Zielona Góra were examined. Examinations were conducted in spring period. Anthropometric measures such as: body height; body mass; waist, hip, thigh girth were taken. In body components were observed: fat mass (FM %), fat free mass (FFM %), total body water (TBW %), extracellular water (ECW %), intracellular water (ICW %), BCMI grade and basal metabolic rate (BMR).

All assembled data were analyzed with basic statistic methods. Parametric feature differences between comparable groups were evaluated with t-Student test, preceded with variance F-test for independent samples. Pertinence difference evaluation was estimated on $p \leq 0,05$ level.

Distinctive differences in women internal body composition, in relation to phase of menstrual cycle, weren't observed. This outcome should be checked on the basis of bigger, longitudinal representative material.

[1]Jankowska U., [1]Kędracka-Krok S., [1]Fic E., [2]Solich J., [3]Dadlez M., [1]Dziedzicka-Wasylewska M.

QUANTITATIVE PROTEOMIC APPROACH TO STUDY TIME DEPENDENT CHANGES IN RAT AMYGDALA AFTER ADMINISTRATION OF DESIPRAMINE

[1]Jagiellonian University, Kraków,
[2]Polish Academy of Sciences, Institute of Pharmacology, Kraków,
[3]Polish Academy of Sciences, Institute of Biochemistry and Biophysics, Warszawa, Poland
urszula.jankowska@uj.edu.pl

Antidepressant drugs (ADs) are thought to be effective only after long administration, however in our previous studies we demonstrated that some effects of ADs, usually reported in animals following chronic (2-3 weeks) treatment, could be also observed following single administration, but after 2-3 weeks of drug-free period (Kusmider M, 2006). There are also a number of clinical studies addressing that phenomenon by introducing the "pulse therapy" to depressed patients. The present studies examine the effects of chronic and acute administration of desipramine (DMI) on the level of proteome of rat amygdala.

Rats were divided into four groups: control group which received saline i. p. and groups treated with desipramine (DMI, 10 mg/kg i. p.): once group received desipramine repeatedly, once a day for 21 days, second group received single dose of desipramine 24 h before sacrifice, the third group received single dose of DMI, but 20 days before sacrifice. Proteins from rat amygdala were extracted and digested with trypsin. The resulting peptides were labeled using isobaric tags for relative and absolute quantitation (iTRAQ). This approach allows simultaneous identification and quantitation of proteins in four different samples (Aggarwal K., 2006). Labeled peptides were mixed, fractionated by isoelectrofocusing, then analyzed by liquid chromatography and tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Determination of the iTRAQ-labeled peptide pair ratios was performed by in-house software - Diffprot.

The samples extracted from 6 rats of each group were investigated, 5 technical repeats were performed. The total number of identified proteins by Mascot against NCBI database was 3096 with statistical significance $p<0,05$. The proteins which were identified on the basis of at least two peptides were taken into further consideration. Quantitative proteomic study (statistical significance $q<0,05$) revealed several groups of proteins which have responded to desipramine administration i.e. proteins involved in vesicle transport, mitochondrial metabolism, neuroplasticity and myelinization.

We observed that chronic administration of DMI has caused the slight increase in the level of a few proteins which belong to groups of vesicle transport proteins, cytosceletal proteins and enzymes. Short-term changes induced by a single administration of the drug (DMI 24 hours before

sacrifice) were mainly related to the down-regulation of the enzymes. The activation of signaling pathway was observed as the increase of G protein level and brain acid soluble protein 1. DMI administration in a single dose, but following 20 drug-free days induced large alterations in the level of proteins which are involved in neuroplasticity processes like neurotrophins (e. g. contactin associated protein 1, protein S100-B) and myelinization processes (e.g. myelin basic protein 1, myelin-oligodendrocyte glycoprotein). It has been found that the 2',3'-cyclic-nucleotide 3'-phosphodiesterase is up-regulated, what is considered as a compensation effect. The changes in proteins level are time dependent. Significant changes in the level of cytoskeletal proteins have been observed 3 weeks after single administration of the desipramine whereas they were not observed in the other studied groups.

Kojder B., Gadomska M., Nowacka-Chiari E.

SELECTED MEASUREMENTS OF FATNESS AMONG STUDENTS OF ZIELONA GORA UNIVERSITY

University of Zielona Góra
ul. Prof. Z. Szafrana ,1, Zielona Góra, 65-516, Poland
echiari@wnb.uz.zgora.pl

Body Impedance Analysis (BIA) is a non-invasive method of diagnostic research that enables exact analysis of body composition using organism tissues electric impedance. This method uses muscular tissue electric conduction. BIA allows to define water and fat tissue content, and individual level of primary metabolism in organism. It can also reveal some factors influence on direction of body components change.

With BIA method 54 students studying on University of Zielona Góra were examined. Examinations were conducted in spring period. Characterized material is represented of 20 males (aged 20 -27) and 34 females (aged 19-27). A poll was conducted. Anthropometric measures such as: body height; body mass; waist, hip, thigh girth were taken. BMI index was estimated, and this criterion was used to classify examined students to categories: underweight, norm, overweight and obesity (according to WHO criterion). In body components were observed: fat mass (FM %), fat free mass (FFM %), total body water (TBW %), extracellular water (ECW %), intracellular water (ICW %), BCMI grade and basal metabolic rate (BMR).

All assembled data were analyzed with basic statistic methods. Parametric feature differences between comparable groups were evaluated with Student's t- test, preceded with variance F- test for independent samples. Pertinence difference evaluation was estimated on $p \leq 0,05$ level.

Majority of examined students represent normal body mass. Incorrect body mass cases were noted. In 35% of males overweight and obesity occurred. Underweight in both sex was represented in similar proportion (7%). Alike men and women presents average healthy level of fat distribution. Majority of analyzed features have dimorphic character. Except is BMI, hip and thigh girth. In comparison to men, women show higher fat level, and lower level of fat free mass and total body water; although men have lower intracellular water level. Women show also lower level of basal metabolic rate (BMR) and BCMI. Indicated differences were statistically proved.

Kołodziejski M., Nowacka-Chiari E.

EFFECTS OF SELECTED ELEMENTS OF LIFESTYLE ON BODY COMPOSITION

University of Zielona Góra,
ul. Prof. Z. Szafrana, 1, Zielona Góra 65-516, Poland
echiari@wnb.uz.zgora.pl

The purpose of our research was to investigate the correlation of body composition with selected elements of lifestyle. The research took place in late January and February (27.01 and 02-03.02), 2010 and was attended by 38 people, including 27 men and 11 women.

These were mainly people from the university environment (students and university staff). The age of women ranged from 19 to 26 with an average age of 23 years and for men the age range was located between a 19 and 38 years of age with an average age of 24. In the subjects was measured body weight and height and thigh circuits, waist and hips. Body composition was determined by electrical impedance (BIA). Based on height and weight were calculated body mass index BMI. Persons involved in the measurements filled out the survey, which has allowed the respondents to evaluate on the elements of lifestyle such as diet, physical activity or use of substances such as alcohol, caffeine, nicotine. The analysis was performed based on the basic statistical methods. To determine differences in parametric features we used t-Student test. It was preceded by a test of variations F. Statistical significance set at $p \leq 0,05$. In the entire analyzed sample 31,5% of people had an excess of body weight. Among women the percentage was lower (9,09%) than men (40,7%). Body composition analysis confirmed his dimorphic character. In group women the average level of body fat was 34,5% and was greater than men who averaged 20,1%. In terms of muscle mass, men had higher percentages of this component (average 43,3%) than women (average 35,7%). Among men, there has been a greater percentage of the total water (TBW%). It amounted to an average of 56,5% for men, while 49,2% for women.

Taking into account selected elements of lifestyle, there were no clear differences in body composition of subjects. Undoubtedly, this result should be adjusted based on a larger material and more clearly its breakdown due to lifestyle patterns.

Węgrzyn A., Szade A., Waś H., Dulak J., Józkowicz A.

EFFECT OF HEME OXYGENASE-1 ON HEPATOCYTE GROWTH FACTOR PATHWAY GENES EXPRESSION IN CARCINOMA OF LOWER ESOPHAGUS.

Jagiellonian University,
Gronostajowa 7 Str., 30-387 Krakow, Poland
e-mail: alicja.jozkowicz@uj.edu.pl

Heme oxygenase-1 (HO-1) is an enzyme induced by inflammatory cytokines and oxidative stress which degrades heme to biliverdin, carbon monoxide and iron (Maines MD, 1988). Recent data indicates that HO-1 can be induced also by hepatocyte growth factor (HGF) through it's receptor c-Met and is playing crucial role in some of the effects of HGF/c-Met pathway (Nagano T. at al., 2004), such as decreased sensitiveness to therapies or increased metastatic potential (via enhanced matrix degradation and dissociation (Parr C.). Both HO-1 and HGF/c-Met pathways are shown to be up-regulated (Józkowicz A. at al., 2007) in various types of cancers including lower esophagus carcinoma (Lee J. at al., 2008; Herrera LJ. at al., 2005).

In the present study, the role of HO-1 in regulation of HGF/c-Met pathway genes (endogenous pro-HGF, matriptase, HAI-1, HAI-2, c-Met) in human esophageal carcinoma (OE33) cell line was evaluated. The level of mRNA was measured by Real-Time PCR. In order to obtain elevated level of HO-1 two its activators, hemin and cobalt protoporphyrin IX (CoPPIX) (Otterbein LE at al., 2003) were used. Results were compared between cell lines with normal level of HO-1, cell lines with elevated level of HO-1 and those after stimulation with HGF.

We demonstrated that HO-1 influences the HGF/c-Met pathway. Its activation leads to the analogical to the HGF-dependent decrease of HGF and c-Met expression and increase of activators of the HGF (matriptase) level via downregulation of serine protease inhibitors HAI-1 and HAI-2 and up-regulation of the matriptase mRNA. These findings indicate the existence of a new possible interraction between HO-1 and HGF. Therefore molecular mechanism of this interaction and its role in carcinogenesis will be further investigated.

Żyburt M., Nowacka-Chiari E.

THE ELEMENTS OF LIFESTYLES AMONG SCHOOL YOUTH FROM LUBSKO (LUBUSKIE PROVINCE, POLAND)

University of Zielona Góra
ul. Prof. Z. Szafrana 1, Zielona Góra, 65-516 Poland
echiari@wnb.uz.zgora.pl

The thesis "The elements of lifestyles among school youth from Lubsko (Lubuskie Province, Poland)" was compiled, *inter alia*, on the basis of the analysis of the material originating from the survey research I carried out in the environment of a small town. The surveys were addressed to students of primary schools, junior and senior high schools of Lubuskie Province. The data refer to the total of 592 students including 252 boys and 340 girls. Such elements of lifestyle were evaluated as hygiene of mouth, hygiene of sleep, physical activity, time spent before TV set and computer, diet, extremely risky behavior and financial situation of the family. The extremely risky behavior includes such instances as smoking cigarettes, drinking alcohol, drugs and intimate sexual contacts.

Within age criterion, it may be stated that the older youth tend more to present anti-health behavior than the younger youth. The features which differentiate the two gender groups are the hygiene of mouth, diet, physical activity, drugs and intimate sexual contacts. Definitely more girls than boys take care of the hygiene of mouth, however, they do not have the recommended daily meals. This negative behavior is likely to be caused by their care of their looks while in some cases it may affect negatively the health of young people. Definitely more boys than girls declared their being physically active within the week. However, it is alarming that there were more males than females who take drugs and have intimate sexual contacts. As for the remaining features, the share of boys and girls is nearly similar.

Nowadays, it is difficult to find a healthy lifestyle among young people. In the era of electronic development, active lifestyle is frequently forgotten. Due to their numerous duties, young people usually do have all the meals regularly. This may result in weakness of their organisms and malaise. Stress and tension experienced by teenagers at school are often relieved via such extremely negative behavior as smoking cigarettes, drinking alcohol, taking drugs or too early sexual initiations.

Special attention should be paid to promotion of healthy lifestyles not only among children and adolescents but also among their parents and older generations who are responsible for the young.

АВТОРСЬКИЙ ПОКАЗЧИК / INDEX

Banas A., 102
Batiuk M., 181
Benedyk M., 49
Bereta J., 185
Blozva N., 48
Boldyrev O., 181
Boshkov A., 109
Broda Z., 102
Brunet J., 212
Chalastanis A., 49
Chebotar G., 101
Chebotar S., 101
Chmielarczyk A., 179
Dadlez M., 230
Das S., 185
Draguschenko O., 187
Dulak J., 232
Dziedzicka-Wasylewska M., 230
Dzunenko E., 62
Evtushenkov A., 103, 179, 180, 195
Falfushynska H., 48, 50
Fedorenko V., 103
Fic E., 230
Flaus A., 104
Gabrys H., 102
Gadomska M., 229, 231
Galkin O. 178
Gavryliuk O., 212
Gnatyshyna L., 48, 50
Gniazdowski J., 111
Goltvyansky A., 109
Gonchar M., 105
Górski R., 140
Gunina K., 103
Guschinskaya N., 194
Haravik Y., 179
Horbay R., 6
Jamska K., 135
Jankowska U., 230
Janowicz J., 102, 106
Jasińska A., 138, 139, 140, 141, 142
Jasińska M., 137
Józkowicz A., 232
Jozwiak W., 213
Jozwiak A., 212
Jura J., 49
Kasa O., 106
Kastrickaya M., 103
Kędracka-Krok S., 230
Keivan M., 109
Khokhlov A., 101
Kiselev D., 107, 118
Kitlinska A., 102
Klemantovich A., 178
Kliza K., 49
Koj A., 49
Kojder B., 63, 229, 231
Kołodziejski M., 231
Kosyk O., 212
Kozik E., 110
Koziowska M., 212
Kudzina I., 103, 179
Kuharchik N., 103
Kuklin A., 187
Łabno A., 185
Lagonenko A., 103, 179, 180
Legube G., 104
Lootsik M., 6
Maksymiv N., 48
Maksymov L., 118
Manko B., 6
Manko V., 6
Minia I., 187
Mizgalska D., 49
Motsnyy I., 101
Murzyn K., 49
Myamin V., 178
Nowacka-Chiari E., 229, 231, 231, 233
Obolenska M., 187
Ogonek J., 185
Ostash B., 103
Pesnyakevich A., 178
Pieniążek E., 49
Pobiega M., 179
Potters G., 212
Prisyazhnenko O., 195
Prosyannikova I., 62
Romaniszyn D., 179
Romanova M., 105
Rostama S., 109
Sadovskaya O., 180
Sas-Golak I., 142
Seliazniova Y., 103, 179
Seoighe C., 104

Sharay O., 195
Shuba Y., 181
Shuldyk O., 50
Sivolap Y., 101
Siwulski M., 137, 138, 139, 140, 141, 142
Smirnov O., 107
Sobieralski K., 137, 138, 139, 140, 141, 142
Solich J., 230
Stalińska K., 185
Stoika R., 6
Surkont J., 104
Szade A., 232
Tcipyk O., 103
Tertychna O., 109
Turczynowska A., 102, 106
Walińska K., 63
Waś H., 232
Węgrzyn A., 232
Wojciechowska K., 110
Wojciechowski A., 106
Wojkowska-Mach J., 179
Wójtowicz E., 49
Woźnicka A., 63
Yushchuk O., 103
Yushkova E., 106
Zagdaj E., 179
Zakalska O., 105
Zakalskiy A., 105
Zawadzka K., 111
Żurowska S., 63
Żyburt M., 233

Абдуліна Д., 143
Алєксєєв О., 214
Андрієнко В., 168
Антоненко Л., 65
Антонюк М., 66
Антонюк С., 67
Асауленко Л., 143
Афанасьєв С., 21
Бабенко Л., 143
Базілюк О., 227
Бакун В., 196
Бандурко В., 51
Бараннік Т., 42
Баранов В., 210
Барська М., 48, 189
Бевзюк О., 144
Бено Ю., 6
Берегова Т., 23
Бігун І., 151
Білий О., 148
Білий Р., 193
Білінська І., 147, 151
Білозуб О., 111
Білоус С., 68
Біндяк Л., 21
Бобак Я., 48, 181, 185
Бойко І., 197
Бойко С., 69, 70, 208
Болонна Н., 52
Болюх Н., 22
Бондаренко В., 219
Бондаренко О., 216
Бондарчук А., 71
Борис Й., 198
Бородай В., 72
Бородіна Т., 23
Борсукевич Б., 154, 162, 166, 168, 176
Бродяк І., 26, 43, 46
Бундз О., 145
Бунча В., 73, 74
Буньо Л., 198
Бура А., 112
Бура М., 7, 11, 13, 14, 16, 17, 20
Бурда В., 45
Бурцева Г., 146
Бучковська І., 24
Ванзар О., 57
Василів О., 148
Васянович І., 199
Великопольська О., 215
Величко О., 200, 204, 205
Вербовська К., 25
Винницька Б., 48, 185
Вовк О., 48
Волинський Д., 113
Волков Р., 189, 190, 200, 201
Воробець Н., 151
Гавданович Ю., 200
Гаврик А., 161
Гайовий Ю., 52
Галайко С., 151
Галенова Т., 26, 44
Галицький Т., 53
Гальчишак Л., 26
Генега А., 7
Герчак О., 147

Гетьман В., 148
Глов'як А., 225
Гнатуш С., 148, 155, 162
Голембіовська С., 147
Головань А., 149
Головань О., 28
Головей О., 75, 112
Головчак Н., 17
Голуб Н., 76, 77
Голуб О., 76
Гончар М., 78, 159
Горбатюк О., 78
Горішний М., 166, 172
Горон М., 114
Горяча І., 216
Господарьов Д., 225
Гошовська Ю., 216, 218
Гречух Т., 148
Гринаш Т., 217
Гринчук К., 183
Грищенко В., 36
Громико О., 78
Грохольська О., 27
Грубський Я., 79
Груник Н., 80
Гудзь С., 157, 166, 172, 174, 177
Гуль А., 40
Гуменюк Р., 181
Гураль С., 158
Гут Р., 211
Даниленко С., 146
Данилюк Х., 29
Данілкова Т., 72
Даценко Я., 143
Дацюк Л., 22
Дворщенко К., 23
Демиденко К., 77
Демків О., 159
Денега І., 30
Деркач Є., 25, 28, 31, 37
Деркач М., 150
Джура Н., 114, 121, 123
Дзюба Т., 81
Дика М., 6, 10
Дикий І., 126
Дильова О., 45
Добровольська Р., 218
Довбенко О., 31
Доліба І., 200, 201
Домащенко А., 36
Дорош Л., 165
Доценко В., 8
Доценко О., 12, 19
Драганчук О., 144
Дрозд І., 54
Дудок К., 40
Думанчук Н., 205
Дуфанець О., 156, 171
Дюбко Т., 9, 15, 216, 222
Євтушевська Л., 82
Єрохін В., 83
Єфанова О., 182
Єфіменко Т., 66
Жегунов Г., 9, 216
Житняковська О., 9
Жук І., 202
Жураховська Д., 84
Забродський Р., 219
Загородна І., 176
Заїченко О., 16
Захарко І., 151
Заяць А., 55
Звір Г., 154, 156, 164, 166, 171
Звягінцева О., 220
Здіорук М., 26, 43
Зінченко В., 216, 222
Зла А., 33
Іванович Я., 190
Івашків І., 125
Ігуменцева Н., 48
Ільєнко В., 65
Каземірська М., 56
Кальченко А., 73, 74
Камінський О., 31
Канарський Є., 85
Канюка О., 44
Карпенко О., 83
Качинська В., 116
Качмар Б., 203
Кеца О., 21, 33
Кирпичова І., 85
Кисельов Д., 71, 81, 85, 86, 87, 88, 89
Кізілова В., 90
Кіося Є., 90
Кіт О., 9
Кіямова Р., 192
Клевета Г., 47
Клевець М., 223

Клепач Г., 115
Клечак І., 65
Клим І., 162, 168, 176
Климишин Д., 78
Климишин Н., 38, 159
Клімова О., 220, 222
Кляченко О., 91
Кметь О., 151
Кобилецька М., 197, 203
Ковальова В., 211
Ковальчик М., 204, 205
Ковальчук О., 115
Козін Ю., 15, 222
Козьма К., 151
Колісник Я., 158, 169
Колодяжний О., 183
Коломієць Ю., 68, 82, 92
Конон А., 152, 153
Конопельнюк В., 26, 44
Копильчук Г., 24
Кореніч А., 187
Коркач Ю., 221
Косик О., 209
Косян А., 209
Кот К., 222
Котляр І., 32
Коцюруба А., 221
Криловська С., 91
Кришталь Д., 9
Крищук Н., 229
Крупак В., 184
Кузьмак М., 217
Кулачковський О., 20
Кунда-Пронь І., 115
Кундєєв М., 93
Кунець О., 125
Купіна Н., 154
Курліщук Ю., 181, 185
Курова А., 149
Кусьнеж О., 126
Кутузова К., 81
Куцоконь Н., 94
Кучков В., 10
Кушкевич І., 148, 162
Лавінська О., 222
Лавренчук В., 147
Лавренюк Л., 154
Лаврик С., 155
Лазуркевич Х., 117
Лапковська О., 156
Левицька О., 157
Легка Л., 186
Лейченко А., 127
Лєснік В., 128
Линів Л., 48, 189
Литвин В., 158
Литвиненко О., 36
Ліманська Н., 161
Ліновицька В., 52
Лозінський О., 34, 228
Лопатнюк М., 79
Лубенець В., 7, 13, 20
Лупак М., 159
Лучко К., 95
Лущак О., 229
Лущак Ю., 206
Люта М., 45
Мажак К., 10
Майданська Н., 57
Максимів І., 228
Максимович В., 206
Малєєва Г., 187
Малишева О., 160
Маловічко О., 122
Мандзинець С., 7, 11, 13, 14, 16, 17
Манько Б., 215, 223
Манько В., 215, 223
Маньковська О., 96
Мартинова С., 35
Мартинюк В., 15
Марченко М., 21
Масловський О., 128
Матійців Н., 97
Машейко І., 36
Межуєв О., 182
Мелікян С., 46
Мельникова Н., 25, 28, 31, 31, 37
Мельниченко Ю., 66
Мерлавський В., 223
Мерлич А., 161
Микитин Т., 118
Микієвич І., 210
Мирон О., 38
Мирончук В., 162
Міцевський М., 36
Могиляк І., 80
Мойсеєва Х., 144
Моргулець Л., 144

Мороз О., 150, 154, 156, 162, 164, 166, 168, 171, 176
Морозова К., 188
Москалик Є., 37
Москвін М., 193
Мудрак М., 33
Мутенко Г., 162
Найдюк Я., 219
Насадюк Х., 39
Начичко В., 58
Нежигай Л., 94
Неофіта О., 10
Нестерова Н., 207
Нечай Г., 30
Нечитайло Л., 29
Ніконенко А., 187
Німець О., 78
Німилович М., 214, 224
Новіков А., 59
Новіков В., 13, 20
Огороднійчук Ю., 163
Огороднік Ю., 65
Олексинська О., 189
Онишко Ю., 42
Орлова А., 11
Остапченко Л., 23
Осташ Б., 97
Отчич В., 10
Оцалюк О., 40
Павлюк М., 165
Паланиця М., 207
Панчук І., 200, 201
Панчук Р., 184, 186, 191
Парасюк О., 164
Паук І., 40
Пацула О., 196, 198, 199, 206
Перевєрзєв М., 15
Передерко Л., 119
Перетятко Т., 150, 165, 168, 174, 177
Перетятко Ю., 38
Перхулин Н., 225
Петров І., 98
Пирог Т., 67, 93, 152, 153
Пожидаєва Г., 12
Полікарпова Г., 41
Поліщук І., 13
Постоєнко О., 172
Починок Т., 60
Присяжна О., 221
Прокопик Д., 66
Прокопів А., 137
Рабик М., 97
Раденовіч Л., 187
Рекалов В., 9
Реміз О., 42
Рибка К., 129
Ровенко Б., 226
Рогульська О., 42
Рогуля А., 130
Романюк В., 57
Романюк М., 14, 17
Романюк О., 114, 121, 123
Росаловський В., 40
Рубель Х., 166
Рудик. Л., 166
Русин І., 167
Рябкіна А., 228
Сабадашка М., 43
Савчук О., 26, 44
Сагач В., 216, 218, 221, 227
Сайкевич І., 167
Санагурський Д., 7, 13, 14, 16, 20
Сахарчук О., 44
Сачок О., 131
Сашина Ю., 120
Свідрак К., 61
Свінціцька О., 92
Сембрак Н., 168
Семенихіна О., 227
Семилетова О., 208
Сенечин Н., 121
Сенів О., 80
Сенін С., 23
Сенчугова Н., 172
Сеньків Ю., 193
Сергєєва Ж., 161
Середницька К., 44
Сєрик С., 122
Сибірна Н., 26, 38, 40, 43, 44, 45, 47, 48, 189
Сисенко О., 99
Сичук А., 207
Скарбек С., 228
Скварко К., 6
Скиба І., 168
Скибіцька М., 47
Скібо Г., 187
Скобля Є., 219
Скок Т., 132

Скоробогатов О., 143
Скочиляс Н., 169
Скочко А., 153
Смірнов О., 209
Собко В., 15
Сокол О., 205
Соколик О., 9, 15, 222
Сосновська О., 170
Сосновський Є., 136
Софілканич А., 93
Станевич Н., 122
Старанко У., 22
Стародуб М., 163
Стасик О., 48, 181, 185, 189
Стельмащук Н., 133
Стефурак В., 119
Стецина Ю., 16
Стойка Р., 21, 193
Сторія Х., 171
Струс Ю., 134
Таран М., 87
Тафійчук Р., 128
Тахватулін В., 88
Теличка О., 172
Темник М., 17
Терек О., 114, 121, 123, 196, 197, 203
Терновська Т., 96, 100
Тищук Н., 172
Ткаченко В., 18
Ткаченко Т., 31
Томін А., 193
Томчук В., 36
Тросюк Т., 69
Труш О., 97
Тряпіцина Н., 173
Удовиченко К., 173
Уженков О., 45
Українець С., 88
Улізко П., 9
Федоренко В., 78, 79, 97
Федорович А., 45
Федякова О., 46
Ференц І., 45
Фецко З., 210
Фещук А., 176
Філімоненко М., 75
Філінська О., 32
Філяк Є., 21, 44
Фолюш М., 145
Фостяк Т., 55
Халахурда Д., 161
Харина Л., 46
Хоменко Є., 72
Хопта Н., 29
Хохла М., 47
Цвілинюк О., 121, 123, 198
Чайка О., 174
Чайка Я., 47, 48
Чень О., 48, 189
Череватов О., 189, 190
Черник Я., 80
Чеченєва Т., 94
Чорна Д., 175
Чумак В., 191
Шаванова К., 89
Шаловило Ю., 76
Шевців Р., 137
Шевчик Л., 123
Шевчук Т., 67
Шепельова І., 25, 28, 31, 37
Шестакова Т., 182
Шидловський І., 125, 134
Шиманська Т., 216
Шиян М., 192
Шкандіна Т., 193
Шляхтіна Є., 193
Шпек М., 52
Шпильчин В., 100
Шуба Я., 9
Шуваєва Г., 27
Щербина Н., 19
Щипанська Н., 228
Юринець Х., 176
Юркевич І., 229
Юсипович Ю., 211
Яблонська С., 32
Яворницька І., 125
Яворська Г., 145, 160, 175, 176
Якимчук Г., 177
Ямшанова О., 32
Янович Д., 46
Яремкевич О., 7, 13, 16, 20
Яремчук М., 14
Яценко Т., 70

Наукове видання

Молодь і поступ біології
Збірник тез
VI Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів
21-24 вересня 2010 року, м. Львів

Редакційна колегія
Гнатуш С., Прокопів А., Перетятко Т., Галушка А., Бура М., Рабик М., Яворницька І., Гнатина О., Качмар Б., Гарайда О., Котлярова А., Переймибіда Л., Зинь А., Романюк М., Микитин Н., Починок Т., Гнатуш А., Струс Ю.

Редактор Сідлович Л. І.
Комп'ютерна верстка Демчук В. Л.
Відповідальний за випуск Перетятко Т. Б.

Scientific publication

Youth and Progress of Biology
abstracts book
of the VI international scientific conference for students and PhD students
September 21-24, 2010, Lviv

Editorial board
Hnatush S., Prokopiv A., Peretyatko T., Halushka A., Bura M., Rabyk M., Yavornytska I., Gnatyna O., Kachmar B., Garayda O., Kotlyarova A., Perejmybida L., Zyn' A., Romanyuk M., Mykytyn N., Pochynok T., Hnatush A., Strus Y.

Editor Sidlovych L. I.
Page proof Demchuk V. L.
Responsible for publication Peretyatko T. B.

Підписано до друку . .2010. Формат 70х100/16. Папір офсетний. Друк офсетний. Умови, друк. арк. Обл.-вид. арк. Тираж 330 прим. зам.

Видавничий центр Львівського національного університету імені Івана Франка.
79000 Львів, вул. Дорошенка, 41

Publishing center of Ivan Franko National University of Lviv.
79000 Lviv, 41, Doroshenko str.