МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова

Odessa National University Herald

•

Вестник Одесского национального университета

•

ВІСНИК ОДЕСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ

ТОМ 8. Випуск 1

Біологія

2003

ВІСНИК ОДЕСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ

Том. 7. Випуск 1. 2002
Біологія

Мова видання: українська, російська

(Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу
масової інформації: серія КВ №1763 від 4.11.1995 р.)

Редакційна колегія журналу: В. А. Сминтина *(головний редактор)*, О. В. Запорожченко (*заступник головного редактора*), Є. Л. Стрельцов *(заступник головного редактора)*, Я. М. Біланчин, В. М. Білоус, А. С. Васильєв, Л. М. Голубенко, В. Г. Каретніков, І. М. Коваль, В. Є. Круглов, В. І. Нікітін, В. Н. Станко, В. М. Тоцький, Г. Г. Чемересюк, Н. М. Шляхова.

Редакційна колегія випуску: Т. П. Бланковська, д-р біол. наук, професор; О. В. Жук, д-р біол. наук, ст. наук. співроб.; В. Г. Зиньковський, д-р біол. наук, ст. наук. співроб.; В. О. Іваниця, д-р біол. наук, професор; Л. М. Карпов, д-р біол. наук, професор; В. М. Тоцький, д-р біол. наук, професор *(науковий редактор)*. *Відповідальний секретар* — Н. В. Полтавцева

Адреса редколегії:
65026, м Одеса, вул. Дворянська, 2
Одеський національний університет
ім. І. І. Мечникова

© Одеський національний університет
ім. І. І. Мечникова, 2003

ЗМІСТ

БІОХІМІЯ

О. М. Андрієвський, І. Л. Рижко, О. О. Радіонов
Фізіолого-біохімічні показники в онтогенезі дрозофіли за впливу солей металів 9

О. В. Запорожченко, Л. М. Карпов, О. К. Будняк, А. В. Сорокін, О. О. Кокошкіна
Вміст флавінових та нікотинамідних коферментів у щурів за введення їм деяких субстратів, вітамінів і регуляторів біосинтезу білка 19

С. А. Петров, М. Г. Магла
Утримання метаболітів деяких вітамінів мітохондріями гепатопанкреасу мідій за умов їх виділення 24

Н.Л. Федорко
Вітаміно-коферментна корекція активності піруватдегідрогеназного комплексу в органах щурів в онтогенезі 28

БОТАНІКА, ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

В. П. Герасимюк
Флорістичний аналіз водоростей бентосу Придунайських водойм 37

Н. М. Зеленянська
Вплив препарату гумісол на фізіолого-біохімічні і регенераційні процеси в тканинах лози підщепних сортів винограду 43

І. П. Якуба, Г. А. Швець, О. Б. Паузер
Біохімічний склад овочевих культур за передпосівної обробки насіння марганцем 50

ГЕНЕТИКА

В. П. Доменюк, Н. І. Сторчеус, А. О. Бєлоусов, Ю. М. Сиволап
ДНК-маркування ознак продуктивності кукурудзи методом SSRP-ПЛР 59

Н. А. Мулюкіна
Молекулярна гібридизація та полімеразна ланцюгова реакція у детекції вірусних хвороб винограду 68

В. М. Тоцький, Н. Г. Гандірук, І. В. Ланцман
Життєздатність і частота кросинговеру на ділянці b – cn хромосоми 2 у Drosophila melanogaster за вмісту солей важких металів у поживному середовищі 75

Т. Г. Трочинська, Т. П. Бланковська
Схрещуваність м'якої пшениці з житом та життєздатність гібридних зернівок 81

Н. Д. Хаустова, Алшибли Нассер Мухамед, В. Н. Тоцкий, Е. В. Блажнова
Частота рекомбинаций как показатель генного баланса и приспособленности дрозофилы 86

ГІДРОБІОЛОГІЯ

А. Ю. Варигин
Изменчивость характеристик весового роста мидий в северо-западной части Черного моря 95

С. В. Гаранина
Изучение токсичности пестицидов с использованием тест-объекта Daphnia magna straus (Crustaceae, Cladocera) 103

В. В. Заморов, С. М. Снігірьов, О. В. Сердюк
Розподіл і розмірно-віковий склад промислових скупчень шпроту чорноморського Sprattus sprattus phalericus (Risso) (Clupeiformes, Clupeidae) у районі Дунай-Дністровського межиріччя в 1998 – 2002 рр. 110

А. Г. Петросян, А. В. Кошелев, С. Е. Дятлов
Биология и особенности лабораторного культивирования Wlassicsia Pannonica Daday (Crustacea, Cladocera) 118

ЕКОЛОГІЯ

В. П. Стойловский
Методологические аспекты инвентаризации водно-болотных угодий Украины 129

ЗООЛОГІЯ

Ю. Н. Олейник
Структурная организация и развитие щитовидной железы крапчатого суслика (Spermophillus suslicus Guld.) в раннем постнатальном периоде 139

МІКРОБІОЛОГІЯ

Д. Д. Герасименко, Т. К. Гамарц, О. В. Яковлева, І. В. Трушина
Характеристика мікробіоти кишечнику за дисбактеріозу у людей 147

Т. В. Євса
Протизапальна дія та антиоксидантна властивість рослинного меланіну 152

О. Ю. Зінченко
Вплив порфіринів на ріст грампозитивних і грамнегативних бактерій 157

Н. В. Кур'ята, Н. О. Єлинська
Здатність штамів лактобацил продукувати антидефенсини 161

С. В. Медінець
Чутливість штаму Salmonella enteritidis var. Isatchenko до антибіотиків, інтерферону та аміксину 167

О. В. Нікітін
Протизапальна дія нової координаційної сполуки германію з гідразидом ізонікотинової кислоти 173

О. Л. Рахімова, Л. В. Азарова, В. Е. Рижко, І. М. Чеснокова
Антимікробна активність соків деяких оранжерейних рослин 177

М. С. Черенков, Н. А. Багаева, Л. О. Джуртубаєва, О. С. Багаева
Біологічні властивості ларвіцидних бактерій Bacillus thuringiensis Л-14 183

Г. В. Ямборко
Вплив бактерій роду lactobacillus на мікробіоту кишечнику щурів 189

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН

Т. В. Коломійчук, Л. І. Сьомік, Ф. П. Ткаченко, Т. В. Гладкій
Адаптогенна дія водоростевих екстрактів — відновлення деяких показників периферійної крові щурів за умов хронічного стресу 197

І. Г. Чудотворова, Т. Ю. Степанова
Вплив синтетичних індукторів інтерферону на функціональну активність макрофагів за експериментального токсичного гепатиту 205

ОГЛЯДОВІ СТАТТІ

Н. А. Шалимов
Основные проблемы общей теории конституции живых систем 213

ІСТОРІЯ НАУКИ ТА УНІВЕРСИТЕТУ

Л. І. Сьомік, Т. В. Гладкій
До сторіччя з дня народження Файтельберга Рафаїла Йосиповича 225

В. О. Кузнєцов
Біологічний факультет Одеського національного університету в період тимчасової окупації м. Одеси (1941 – 1944 рр.) 228

БІОХІМІЯ

УДК 577.152.34.083.042.591.434:595.773.4:591.3

О. М. Андрієвський, канд. біол. наук, доц. **І. Л. Рижко,** асп.,
О. О. Радіонов, магістр
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра генетики та молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ В ОНТОГЕНЕЗІ ДРОЗОФІЛИ ЗА ВПЛИВУ СОЛЕЙ МЕТАЛІВ

Вивчали динаміку зміни протеазної активності кишечника дрозофіли за впливу солей металів in vivo. Визначали показники репродуктивної активності батьківських форм, елімінації нащадків, а також зміни в термінах розвитку Drosophila melanogaster на основних стадіях онтогенезу за токсичного впливу солей металів.
Ключові слова: протеоліз, солі металів, репродуктивна активність, онтогенез, дрозофіла.

Використовуючи інбредні лінії дрозофіли дикого типу, а також Меллер-5, досліджували деякі показники її життєздатності (репродуктивну активність, темп розвитку, стресорезистентність, рівень протеолізу в травній системі) на фоні токсичного впливу солей металів.

При виконанні даної роботи ставили за мету експериментально вивчити деякі фізіологічні ознаки та особливості функціонування протеолітичної системи дрозофіли за нормальних умов, а також у випадку дії на мух солей металів.

Матеріали і методи

У дослідах використовували тільки синхронізований матеріал: 3-добові личинки, лялечки та імаго двох інбредних ліній Drosophila melanogaster – Normal і Меллер-5. Лінія мух Меллер-5 відрізняється від мух дикого типу по забарвленню тіла й очей (жовте тіло, абрикосові очі), а також Х-хромосомою, що містить дві інверсії — sc^8 і δ^{49}, які повністю виключають кросинговер. Обидві інверсії не пов'язані з рецесивною летальною дією [1].

Розвиток мух відбувався на стандартному живильному середовищі з домішками солей металів, взятих у різних концентраціях [1, 2, 3]. Солі металів (хлориди Na, K, Co, Cu, Ca і сульфат Zn) одноразово вводили в кормове середовище у певних кількостях в об'ємі розчину 25 мл з метою отримання кінцевих концентрацій солей від 0,2 до 12,0 мг на 1 мл корму. У живильне середовище, на якому розвивалися контрольні мухи, солей металів не додавали.

У ході виконання роботи визначали реальну репродуктивну активність по числу лялечок, що утворилися за тих чи інших умов; підраховували

© О. М. Андрієвський, І. Л. Рижко, О. О. Радіонов, 2003

кількість лялечок і імаго, що давало можливість визначити відсоток загибелі на стадіях лялечка-імаго; відзначали зсув у термінах розвитку личинок і лялечок у досліджуваних мікропопуляціях у порівнянні з контрольними; знаходили дози токсичності і летальності досліджуваних одно- і двовалентних катіонів, застосованих на різних стадіях ембріонального і постембріонального розвитку дрозофіли; оцінювали інтенсивність протеолізу в системі травлення у покоління імаго, яке виникло після проходження повного циклу розвитку на фоні інтоксикації солями металів.

Екстракти експериментального матеріалу одержували за наступною схемою: личинок, лялечок і імаго відокремлювали від живильної суміші чи субстрату і гомогенізували в 0,1 М буфері гліцин — NaOH (pH 9,0) при кімнатній температурі протягом 1 – 3 хвилин. Після цього гомогенати центрифугували 15 хвилин при 12000 g. Вміст білка в екстрактах визначали методом Лоурі та співавторів [4]. Отримані екстракти аналізували і при необхідності зберігали при –10 — –15 ^{0}C.

Протеолітичну активність визначали за допомогою двох субстратів – БАПНА (бензоїларгінін-п-нітроанілід) і БАЕЕ (бензоїларгінін-етиловий ефір). Метод визначення естеразної активності трипсину і трипсиноподібних ферментів [5 – 11] оснований на кількісній спектрофотометричній реєстрації одного із продуктів гідролізу складного ефіру, що відрізняється більш високою оптичною щільністю за довжини хвилі 253 нм [4, 12]. Метод визначення анілідазної активності пептидгідролази оснований на спектрофотометричній реєстрації (382,5 нм) п-нітроаніліну, що утворюється в реакції гідролітичного розщеплення БАПНА. Відносну активність пептидгідролаз (ВА) виражали в міліодиницях (мО) у розрахунку на 1 мл досліджуваного розчину; питому активність (ПА) — в міліодиницях (мО) у розрахунку на 1 мг білка в досліджуваному екстракті тканини. За одну міліодиницю приймали кількість ферменту, що розщеплював 1 мкмоль субстрату за 1 хв інкубації при +37 ^{0}C.

Отримані дані піддавали статистичній обробці [13].

Результати досліджень та їх аналіз

Нами встановлено, що солі Na^+ викликають деяке сповільнення процесу розвитку мух на стадії личинки за синхронного розвитку нащадків на всіх стадіях. Про це свідчить той факт, що всі личинки сформувалися одночасно, однак за наявності у кормі натрію відставали у розвитку від личинок контрольних мух. У присутності солей K^+ була помітна несинхронність розвитку нащадків, однак без зсуву термінів окремих фаз розвитку. Солі Cu^{++} і Zn^{++} викликали істотну затримку і асинхронність розвитку мухи. Так, наприклад, мідь викликала затримку розвитку мухи на стадіях личинки-лялечки на 4 – 5 днів. Концентрація 0,4 мг $CuCl_2$ у 1 мл корму була летальною для личинок, ця ж сіль у концентрації 0,6 мг/мл припиняла розвиток на стадії яйця. $ZnCl_2$ у концентрації 0,4 мг/мл також є летальним для личинок мухи. Солі Ca^{++}, навпаки, викликали прискорення проце-

су індивідуального розвитку на стадії личинки на 1 добу при чіткій синхронізації розвидку нащадків на всіх стадіях онтогенезу.

Кількість нащадків дрозофіли дикого типу на середовищі з солями натрію у високих концентраціях на 30 - 40 % нижча у порівнянні з мухами, що розвивалися за низьких концентрацій цієї солі (табл. 1). Так, на стадії лялечки у залежності від концентрації припинявся розвиток від 0 – 3 % до 9 – 20 % особин.

Таблиця 1

Репродукція батьківських форм та елімінація нащадків дрозофіли дикого типу у нормі і за впливу солей металів

Стадії розвитку	Контроль	NaCl, мг/мл				KCl, мг/мл				$CaCl_2$, мг/мл						$CuCl_2$, мг/мл		$ZnSO_4$, мг/мл
		2	4	6	8	2	4	6	8	1	2	3	4	5	6	0,2	0,4	0,2
Лялечки (шт.)	180	492	451	252	232	181	175	115	144	203	227	171	118	82	123	135	—	5
Імаго (шт.)	173	381	413	245	260*	127	163	106	127	163	212	160	103	75	106	97	5*	5
Елімінація (%)	4	23	9	3	0	30	7	8	12	20	7	6	13	8	14	29	0	0

Примітка: * – затримка розвитку на стадіях личинки – лялечки

У випадку лінії Меллер-5 припинявся розвиток 27 – 35 % лялечок за низьких концентрацій солей і 6 – 20 % лялечок — за високих (табл. 2).

Таблиця 2

Репродукція батьківських форм та елімінація нащадків дрозофіли Меллер-5 у нормі і за впливу солей металів

Стадії розвитку	Контроль	NaCl, мг/мл					KCl, мг/мл				
		2	4	6	8	12	2	4	6	8	12
Лялечки (шт.)	212	80	180	130	19	7	14	182	24	32	186
Імаго (шт.)	155	67	117	122	15	6	11	152	15	25	173
Елімінація (%)	27	27	35	6	20	8	28	27	37	24	7

Збільшення у живильному середовищі концентрації іонів калію призводило до зниження репродукції на 17 – 20 % у порівнянні з контролем; кількість нежиттєздатних пупаріїв коливалася від 7 до 12 % у залежності від концентрації солі у випадку мух дикого типу і від 7 до 28 % — у мух лінії М-5.

На всіх живильних середовищах з кальцієм було відзначено зниження реальної плідності мух на 20 % у порівнянні з контрольною мікропопуляцією; загибель лялечок склала 7 – 14 % у залежності від дози хімічної добавки.

На живильних середовищах з добавками $CuCl_2$ на стадії лялечок гинуло 29 % особин, що призводило до низької реальної плодючості мух за цих умов.

Солі цинку помітно зменшували репродуктивний потенціал досліджуваних популяцій мух, однак загибель лялечок при цьому не спостерігалася.

Солі металів призводили до зміни вмісту білка в екстрактах тканин дрозофіли, причому цей вплив був різним для окремих досліджуваних ліній (рис. 1 – 2). Так, на стадії личинки у мух лінії Меллер-5 збільшення вмісту білка у тканинах викликали солі натрію, цинку, кобальту, у мух дикого типу – солі натрію, калію, кальцію, кобальту і міді. На стадії лялечки у лінії Меллер-5 солі металів призводили до зниження вмісту білка у порівнянні з контролем, у лялечок Normal солі калію, кальцію і кобальту викликали невелике підвищення вмісту білка. На стадії імаго у дикого типу спостерігалося підвищення концентрації білка при додаванні в живильне середовище солей калію і цинку, а у Меллер-5 –крім того, ще і натрію.

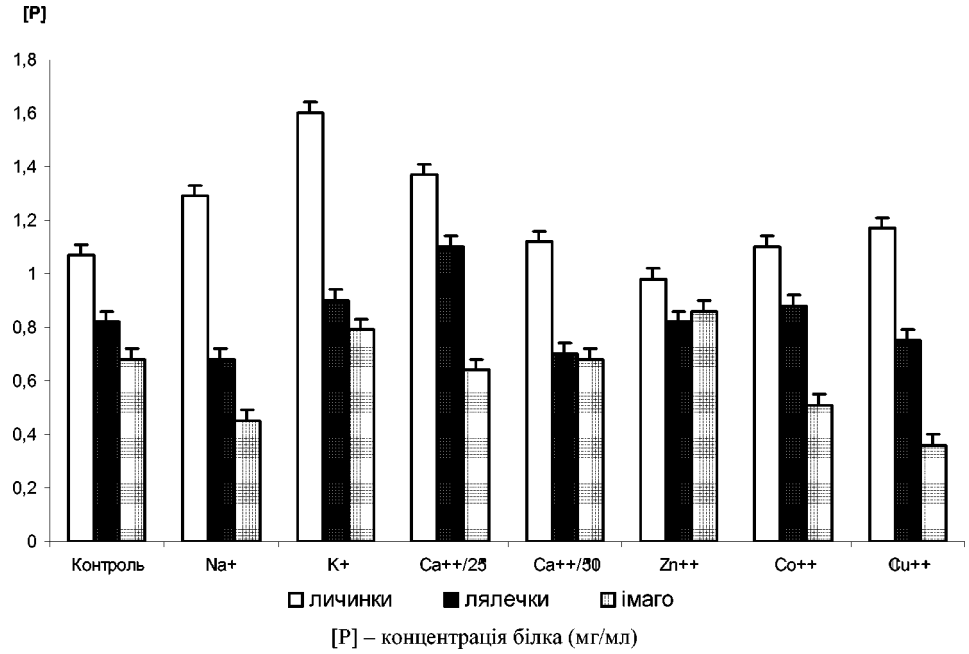


Рис. 1. Концентрація білка в екстрактах тканин дрозофіли дикого типу, що розвивалася на кормовому середовищі з мінімальними домішками солей металів

Вплив мінімальних концентрацій солей металів на активність протеаз ліній Меллер-5 і Normal є дуже подібним, однак спостерігаються і розход-

ження. Так, солі цинку, кобальту і натрію викликають практично однакове підвищення протеолітичної активності у личинок обох ліній. Інші ж солі виявляють неоднозначну дію: у однієї лінії мух вони викликають активування системи протеолізу, а в іншої – інгібування. Так, наприклад, у личинок Меллер-5, що знаходилися на живильному середовищі з добавками солей міді, спостерігалося зниження активності, а у личинок Normal – підвищення.

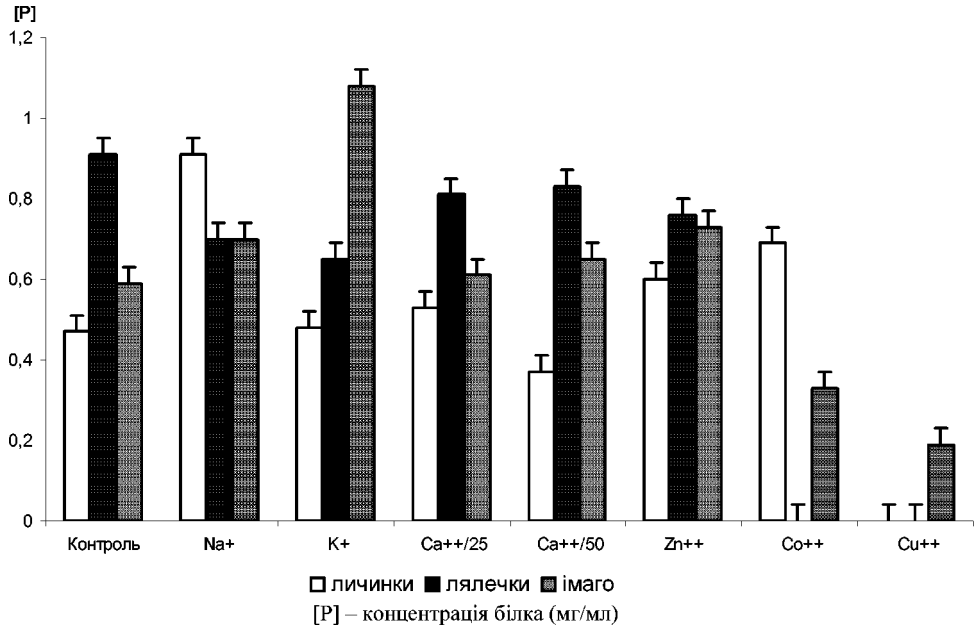


Рис. 2. Концентрація білка в екстрактах тканин дрозофіли лінії Меллер-5, що розвивалася на кормовому середовищі з мінімальними домішками солей металів

За підвищення концентрації солей металів естеразна активність змінювалася (табл. 3-4). Цікаво, що найбільша активність у порівнянні з контролем у личинок спостерігалася за мінімальних і максимальних концентрацій солей.

У імаго за низьких концентрацій солей БАЕЕ-естеразна активність практично не спостерігалася, але виявлялася з підвищенням концентрації солі, що вимагає свого пояснення шляхом подальших досліджень.

У личинок дикого типу, що знаходилися на кормовому середовищі з добавками солей натрію і калію, БАПНА-азна активність була нижчою, ніж у контролі, причому з підвищенням концентрації солі ефект збільшувався (табл. 5).

У імаго дикого типу (табл. 6) добавки солей металів приводили до підвищення БАПНА-азної активності у порівнянні з контролем, але з підвищенням концентрації солей різниця між питомою активністю досліджуваних і контрольних мух зменшувалася.

Таблиця 3

Рівень БАЕЕ - естеразної активності пептидгідролази травної системи личинок дрозофіли дикого типу за впливу солей металів in vivo

Показ-ники	Контроль	NaCl, мг/мл					KCl, мг/мл				
		2	4	6	8	12	2	4	6	8	12
Концен-трація білка (мг/мл)	3,15	2,73	2,52	2,52	2,52	2,73	2,84	3,15	2,94	3,15	2,63
ВА (мО/мл)	375±11,25	375±11,25	300±9,0	375±11,25	0	525±15,75*	525±15,75*	375±11,25	375±11,25	375±11,25	675±20,25*
ПА (мО/мг)	118,75±3,56	137,01±4,11*	118,76±3,56	148,46±4,45*	0	191,82±5,75*	184,73±5,54*	118,75±3,56	127,25±3,82	118,75±3,56	256,46±7,69*

Примітка: * – розходження достовірні у порівнянні з контролем (P<0,05)

Таблиця 4

Рівень БАЕЕ - естеразної активності пептидгідролази травної системи імаго дрозофіли дикого типу за впливу солей металів in vivo

Показники	Контроль	NaCl, мг/мл				KCl, мг/мл				$CaCl_2$, мг/мл					
		2	4	6	8	2	4	6	8	1	2	3	4	5	6
Концентрація білка (мг/мл)	3,19	2,12	2,72	2,6	2,84	2,52	2,92	3,0	3,0	4,32	3,28	2,48	4,32	2,84	3,08
ВА (мО/мл)	0	0	0	0	22,5±0,6*	0	0	15±0,4*	0	11,25±0,3*	0	0	7,5±0,2*	15±0,4*	0
ПА (мО/мг)	0	0	0	0	7,92±0,2*	0	0	5±0,2*	0	2,6±0,1*	0	0	1,73±0,1*	5,28±0,2*	0

Таблиця 5

Рівень БАПНА-анілідазної активності пептидгідролази травної системи личинок дрозофіли дикого типу за впливу солей металів in vivo

Показники	Контроль	NaCl, мг/мл					KCl, мг/мл				
		2	4	6	8	12	2	4	6	8	12
Концентрація білка (мг/мл)	3,15	2,73	2,52	2,52	2,52	2,73	2,84	3,15	2,94	3,15	2,63
ВА (мО/мл)	37,5±1,13	30,0±0,9*	28,88±0,87*	22,50±0,68	26,25±0,79*	0	18,75±0,56	0	30,0±0,9*	22,50±0,69	15,0±0,45
ПА (мО/мг)	11,87±0,36	10,96±0,33*	11,43±0,34*	8,91±0,27	10,39±0,31*	0	6,59±0,2	0	10,18±0,3*	7,12±0,21	5,69±0,17

Примітка: * – розходження достовірні у порівнянні з контролем ($P<0,05$)

Таблиця 6

Рівень БАПНА-анілідазної активності пептидгідролази травної системи імаго дрозофіли дикого типу за впливу солей металів in vivo

Показ-ники	Конт-роль	NaCl, мг/мл				KCl, мг/мл				$CaCl_2$, мг/мл					
		2	4	6	8	2	4	6	8	1	2	3	4	5	6
Концен-трація білка (мг/мл)	5,63	4,07	4,81	4,61	5,02	4,40	5,15	5,29	5,29	8,24	5,76	4,34	8,24	5,02	5,42
ВА (мО/мл)	0,75± 0,02	3,23± 0,1*	2,25± 0,07*	3,90± 0,12*	3,53± 0,1*	3,75± 0,11*	0,38± 0,01*	1,35± 0,04*	0,75± 0,02*	3,38± 0,1*	4,13± 0,12*	3,38± 0,10*	3,75± 0,11*	3,0± 0,09*	3,0± 0,09*
ПА (мО/мг)	0,13± 0,004	0,79± 0,02*	0,47± 0,01*	0,85± 0,03*	0,70± 0,02*	0,85± 0,03*	0,07± 0,002*	0,26± 0,008*	0,14± 0,004*	0,41± 0,01*	0,72± 0,02*	0,78± 0,02*	0,46± 0,01*	0,59± 0,02*	0,55± 0,02*

Примітка: * – розходження достовірні у порівнянні з контролем (P<0,05)

У зв'язку з високою летальністю дрозофіли на кормовому середовищі з добавками солей важких металів протеолітичну активність за цих умов не вдалося визначити.

Таким чином, в результаті дослідження окремих фізіологічних ознак та особливостей функціонування протеолітичної системи Drosophila melanogaster за нормальних умов, а також у випадку дії на мух солей металів ми прийшли до таких висновків:

1) Солі металів викликають зміщення термінів окремих фаз розвитку дрозофіли (солі Na, Cu, Zn викликають сповільнення процесу розвитку, солі Ca – прискорення);

2) Додання солей металів впливає на репродукцію батьківських форм у порівнянні з контролем, з підвищенням концентрації репродукція знижується;

3) Солі металів призводять до зміни вмісту білка в екстрактах тканин дрозофіли, ці зміни різні для окремих досліджуваних ліній;

4) Окремі солі металів викликають зміну протеолітичної активності травної системи плодової мушки, причому ці зміни залежать від концентрації доданої солі.

Література

1. *Медведев Н. Н.* Практическая генетика. - М.: Наука, 1968. – 294 с.
2. *Андриевский А. М., Катаненко С. В., Тоцкий В. Н.* Онтогенетические особенности пептидгидролазной активности экстрактов тканей *Drosophila melanogaster* // Укр. биохим. журн. — 1982. — Т. 54, № 5. — С. 519 – 524.
3. *Андриевский А. М., Радионов Д. Б., Федоренко Л. В., Скиба Я. Е.* Онтогенетические изменения в системе протеолиза у отдельных линий дрозофилы в норме и при тепловом воздействии // III международный симпозиум: Биологические механизмы старения. Харьков. 19 – 21 мая 1998 г. – 1998. — С. 27.
4. *Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R.* Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — V. 193, № 1. — P. 265 – 275.
5. *Антонов В. К.* Химия протеолиза. — М.: Наука, 1983. – 367 с.
6. *Березин И. В., Мартинек К.* Основы физической химии ферментативного катализа. – М.: Высш. школа, 1977. — 280 с.
7. *Бородинская И. Н., Мишунин И. Ф.* Методы определения активности протеолитичсеких ферментов // Укр. биохим. журн. – Т. 60, № 2. – 1988. – С. 105 – 119.
8. *Виноградова Р. П.* Молекулярные основы действия ферментов. – Киев: Вища школа, 1978. — 280 с.
9. *Колодзейская М. В., Пилявская А. С.* Пептидазы. — К.: Наукова думка, 1982. — 176 с.
10. *Мосолов В. В.* Протеолитические ферменты. — М.: Наука. — 1971. — 414 с.
11. *Тоцький В. М.* Генетика. — Одеса: Астропринт, 1998. — Т. 2. — 276 с.
12. *Erlanger B., Kokovsky N., Cohen W.* The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin // Arch. Biochem. and Biophys. — 1961. — V. 95, № 2. — P. 271–278.
13. *Плохинский Н. А.* Алгоритмы биометрии. — М.: Изд.-во МГУ, 1980. — 150 с.

А. М. Андриевский, И. Л. Рыжко, А. А. Радионов
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса,65026, Украина

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ОНТОГЕНЕЗЕ ДРОЗОФИЛЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СОЛЕЙ МЕТАЛЛОВ

Резюме

Изучали динамику изменения протеазной активности кишечника дрозофилы при влиянии солей металлов in vivo. Определяли показатели репродуктивной активности родительских форм, элиминации потомков, а также изменения в сроках развития Drosophila melanogaster на основных стадиях онтогенеза при токсическом действии солей металлов.

Ключевые слова: протеолиз, соли металлов, репродуктивная активность, онтогенез, дрозофила.

A. M. Andrievsky, I. L. Ryzhko, A. A. Radionov
Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukrain

PHYSIOLOGY-BIOCHEMICAL PARAMETERS IN ONTOGENESIS OF DROSOPHILA BY INFLUENCE OF METAL SALTS

Summary

The dynamics of drosophila digestive tract protease activity changes upon metal salts influence in vivo has been studied. The reproductive activity the parameters of parental forms, parameters of descendants elimination and the changes in Drosophila melanogaster development time on the ontogenesis main stages by metal salts toxic influence has been definited.

Key words: proteolysis, metal salts, reproductive activity, ontogenesis, drosophila.

УДК 577.164.12.001.5:591

О. В. Запорожченко, канд. біол. наук, доц., **Л. М. Карпов,** д-р біол. наук, проф., **О. К. Будняк,** канд. біол. наук, доц., **А. В. Сорокін,** канд. біол. наук, мол. наук. співроб., **О. О. Кокошкіна**, асист.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра біохімії, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ВМІСТ ФЛАВІНОВИХ ТА НІКОТИНАМІДНИХ КОФЕРМЕНТІВ У ЩУРІВ ЗА ВВЕДЕННЯ ЇМ ДЕЯКИХ СУБСТРАТІВ, ВІТАМІНІВ І РЕГУЛЯТОРІВ БІОСИНТЕЗУ БІЛКА

Вивчено вплив регуляторів синтезу білків у щурів шляхом ін'єкцій гідрокортизону, хлорамфеніколу, субстратної суміші (пірувату і оксоглутарату) та вітамінного комплексу (B_1, ФМН, нікотинамід, пантотенат кальцію, ліпоєва кислота, B_6) на вміст нікотинамідних і флавінових коферментів в органах щурів. Показано, що модифікатори біосинтезу білків змінюють вміст коферментів, причому цей процес залежить також і від екзогенно доданих субстратів, до метаболізму яких мають відношення досліджені коферменти.
Ключові слова: рибофлавін, нікотинова кислота, вітамінний комплекс, гідрокортизон, хлорамфенікол, піруват, оксоглутарат

Раніше нами було показано [1], що ін'єкції гідрокортизону та інгібіторів біосинтезу білків: актиноміцину, хлорамфеніколу та циклогексиміду перед введенням вітамінів, їх комплексів, а також субстратів у різних комбінаціях підтверджують припущення про істотну роль вітамінів, субстратів та гормонів у регуляції активності дегідрогеназ кетокислот. Одночасно нами було з'ясовано, що введення здоровим тваринам полівітамінного комплексу суттєво підвищує в їх тканинах вміст нікотинамідних та флавінових коферментів [1, 2]. На жаль, сумісна дія вказаних регуляторів синтезу білка на вміст цих коферментів вивчена недостатньо (як правило описується дія окремих речовин, наприклад [3]). Метою наших досліджень стало вивчення сумісної дії деяких субстратів, вітамінів та регуляторів на вміст флавінових та нікотинамідних коферментів у щурів.

Матеріали та методи

Експерименти виконували на щурах Вістар масою 180 – 200 г. Щурам вводили такі препарати і речовини:

Внутрішньоочеревинно:

Гідрокортизон (ГК) – 5 мг/100 г маси за 24 години до дослідження одноразово; хлорамфенікол (ХФ) – по 4,2 мг/100 г через кожні 12 годин протягом трьох діб перед дослідженням [5].

© О. В. Запорожченко, Л. М. Карпов, О. К. Будняк, А. В. Сорокін, О. О. Кокошкіна, 2003

Внутрішньом'язово:

Вітамінний комплекс (ВК) за 2 години до забою. Склад комплексу (мг/кг): B_1 – 6, ФМН – 2, нікотинамід – 20, пантотенат кальцію – 25, ліпоєва кислота – 2, B_6 – 5.

Суміш субстратів (СС): разом з ГК та за 2 години до забою разом з ВК. Дози: піруват – 5 мг/100 г, оксоглутарат – 7 мг/100 г.

Варіанти досліджень та групи щурів були наступними:

1. Контроль (внутрішньом'язові ін'єкції 0,9% розчину NaCl).
2. СС – внутрішньом'язові ін'єкції суміші субстратів (піруват + оксоглутарат).
3. ГК – внутрішньоочеревинні ін'єкції гідрокортизону.
4. ВК – внутрішньом'язові ін'єкції вітамінного комплексу.
5. СС + ВК (внутрішньом'язово).
6. СС + ВК (внутрішньом'язово) + ГК (внутрішньоочеревинно).
7. СС + ВК (внутрішньом'язово) + ГК + ХФ (внутрішньоочеревинно).

Після цього щурів брали у дослід.

У гомогенатах органів, розведених у 0,9% NaCl у співвідношенні 1:10, визначали рівень різних фракцій нікотинамідних коферментів за А. Г. - Халмурадовим [4] та флавінів за С. Юденфрендом [5].

Результати досліджень

У таблиці 1 наведено дані щодо вмісту окиснених і відновлених нікотинамідних коферментів, а також їх суми в органах тварин зазначених груп.

2. СС — субстратна суміш пірувату та оксоглутарату, ВК- вітамінний комплекс, ГК — гідрокортизон, ХФ — хлорамфенікол

Перш за все необхідно відмітити, що концентрація відновленої форми цих коферментів значно коливається в органах усіх груп тварин. У печінці та мозку за дії СС та ГК спостерігається зменшення цього показника у 1,25 і 1,32 рази відповідно, а за дії ВК та його поєднання з іншими біологічно активними речовинами (СС+ВК+ГК) цей показник у печінці підвищуєтся у 1,21 і 1,17 рази відповідно.

На відміну від цього, рівень окиснених коферментів збільшувався у печінці за дії ГК та СС+ВК+ГК у 1,16 і 1,17 рази відповідно. Співвідношення відновлених і окиснених форм (О/В) зростало при введенні ГК у печінці, а при ін'єкціях суміші субстратів — у мозку. Під впливом СС+ВК+ГК цей показник зменшувався в усіх органах, окрім мозку. Необхідно зазначити, що зростання співвідношення О/В у мозку при ін'єкціях СС відбувалося на тлі зменшення загальної кількості нікотинамідних коферментів.

В усіх інших органах рівень окиснених і відновлених форм НАД після застосування використанних у досліді препаратів підвищувався. Ефективними були ін'єкції СС, ГК, але СС та її сполучення з ВК ї ГК більш істотно впливали на рівень окиснених та відновлених нікотинамідних коферментів, ніж один ГК.

Таблиця 1

Дія субстратної суміші, вітамінного комплексу, гідрокортизону, хлорамфеніколу та їх суміші на вміст окиснених (О) і відновлених (В) форм нікотинамідних коферментів (в мкг/г тканини), n = 8

Орган / показник	Контроль	СС	ГК	ВК	СС+ВК	СС+ВК+ ГК	СС+ВК+ ГК+ХА
Печінка							
О	285,0±14,5	316,7±18,8	332,5±16,0*	306,7±18,1	297,7±17,5	335,0±12,3*	274,2±14,4
В	247,5±16,4	197,5±14,3*	187,5±14,6*	299,2±14,1*	252,5±13,5	290,7±9,7*	263,2±13,1
О+В	532,5	514,2	520,0	606,0	550,2	625,7	537,5
О/В	1,15	1,60	1,77	1,02	1,17	1,15	1,04
Нирки							
О	201,2±11,0	245,2±13,9*	212,5±18,1	244,2±14,1*	239,2±11,1*	245,0±14,0*	235,0±9,0*
В	142,5±7,0	141,7±8,7	169,7±8,3*	185,5±12,1*	137,5±10,3	202,5±10,9*	149,7±8,8
О+В	343,7	387,0	382,2	429,7	376,3	447,5	384,7
О/В	1,41	1,73	1,25	1,31	1,73	1,20	1,5
Мозок							
О	197,5±9,5	234,2±12,9*	195,7±12,2	245,7±11,3*	221,7±8,0	257,5±13,3*	185,0±16,3
В	163,2±10,0	117,5±14,8*	175,7±15,6	200,0±10,0*	215,0±11,8*	135,0±6,2*	152,5±10,6
О+В	360,7	351,7	371,5	445,7	436,7	392,5	337,5
О/В	1,21	1,99	1,11	1,22	1,03	1,90	1,21
Серце							
О	277,7±10,9	325,5±11,7*	262,5±7,9	325,0±17,2*	256,0±17,4	321,0±14,6*	271,0±15,0
В	187,7±8,3	202,5±20,8	207,5±10,6	247,5±14,1*	227,0±14,4*	262,5±14,8*	188,5±12,5
О+В	465,5	528,0	470,0	572,5	483,0	583,5	459,5
О/В	1,47	1,60	1,26	1,31	1,12	1,22	1,43

Примітки: 1. * — різниця з контролем-1 достовірна, P J 0,05;

2. СС — субстратна суміш пірувату та оксоглутарату, ВК — вітамінний комплекс, ГК — гідрокортизон, ХФ — хлорамфенікол

Отримані дані щодо вмісту різних форм флавінів за даного експерименту представлені у таблиці 2. Найбільший вміст загальних флавінів та ФАД знайдено у печінці та нирках, далі за цими показниками йдуть серце та мозок щурів. Дія різних введених препаратів та сполук була неоднаковою на різні органи. Так, у печінці рівень ФАД зростав за ін'єкування ВК, СС+ВК, а рівень ЗФ - ще й за введення в організм суміші СС+ВК+ГК+ХФ. У нирках, крім зазначених змін, спостерігався також позитивний вплив ГК на рівень ЗФ, а дія СС+ВК на ФАД була недостовірною. Ін'єкція субстратної суміші призводила до зменшення рівня згаданих показників у мозку. Що стосується серця, то в цьому органі суттєвий вплив на ЗФ мав гідрокортизон, а також застосування ВК та СС+ВК. Щодо інших показників, то їх коливання були неоднозначними. Можна лише зазначити, що дія препарату СС+ВК+ГК+ХФ супроводжувалася зменшенням процентної долі ФАД у складі ЗФ на фоні збільшення суми РФ+ФМН у всіх органах, крім серця. Застосування СС викликало такий же ефект, але лише в нирках та печінці.

Таблиця 2

Дія субстратної суміші, вітамінного комплексу, гідрокортизону, хлорамфеніколу та їх суміші на вміст загальних флавінів (ЗФ), ФАД, суми рибофлавіна з ФМН (мкг/г) та процентну частку ФАД від ЗФ (%), n = 8

Орган / показник	Контроль	СС	ГК	ВК	СС+ВК	СС+ВК+ГК	СС+ВК+ ГК+ХФ
Печінка							
ЗФ	24,20±1,60	24,64+1,90	27,34±2,05	30,43±1,87*	24,20±2,21	34,26±1,92*	31,17±1,74*
ФАД	21,21±1,76	19,41±1,65	21,22±1,10	25,02±1,13*	19,67±1,76	30,01±2,11*	22,42±1,42
РФ+ФМН	2,99	5,23	6,12	5,41	4,53	4,24	8,75
% ФАД	87,65	78,77	77,61	82,21	81,26	87,61	71,94
Нирки							
ЗФ	28,56±1,88	34,30±1,86	35,00±1,78*	33,95±1,36*	39,55±1,84*	42,00±2,22*	46,20±2,12*
ФАД	18,06±1,10	18,09±1,21	21,83±1,24	22,01±1,19*	21,45±1,11	23,72±1,23*	24,70±1,66*
РФ+ФМН	10,50	16,21	13,17	11,94	18,10	18,28	21,50
% ФАД	63,24	52,74	62,37	64,83	54,24	56,48	53,45
Мозок							
ЗФ	11,65±1,12	8,42±0,46*	10,50±0,73	10,42±0,47	10,29±0,41	11,34±0,54	11,55±0,65
ФАД	7,94±0,65	5,11±0,23*	6,76±0,52	7,00±0,29	6,42±0,33	6,42±0,27	5,93±0,33*
РФ+ФМН	3,71	3,31	3,74	3,42	3,87	4,92	5,62
% ФАД	68,17	60,73	64,37	67,18	62,41	56,63	51,32
Серце							
ЗФ	17,22±0,92	19,74±0,93	26,26±1,54*	20,65±1,21*	22,26±1,42*	16,48±0,99	21,00±1,33
ФАД	9,39±0,37	11,36±0,88	13,33±0,71*	13,83±0,67*	12,35±0,84*	9,46±0,73	11,35±0,85
РФ+ФМН	7,83	8,38	12,93	6,82	9,91	7,02	9,65
% ФАД	54,51	57,54	50,76	66,97	55,47	57,40	54,05

Примітки: 1. * — різниця з контролем-1 достовірна, $P \leq 0,05$;

2. СС — субстратна суміш пірувату та оксоглутарату, ВК — вітамінний комплекс, ГК — гідрокортизон, ХФ — хлорамфенікол

Таким чином, вивчені регулятори біосинтезу білка істотно впливають на вміст нікотинамідних та флавінових коферментів. На відміну від інших авторів [6], нами спостережена і помітна роль субстратів, до обміну яких причетні ці коферменти.

Література

1. *Карпов Л. М.* Реализация специфической активности функционально связанных витаминов группы В, их производных и комплексов при различных состояниях организма: Дисс. д-ра биол. наук: 14.00.25. – Одесса, 1994. – 505 с.
2. *Карпов Л. М., Савлучинская Л. Г., Будняк А.К., Сорокин А. В.* Обмен витаминов B_2, B_3 и PP в онтогенезе белых крыс. // Біологічний вісник. – Харків, 1998. – Т. 2, № 2. – С. 46 – 50.
3. *Чекман И. С.* Биохимическая фармакодинамика.– К.: Здоровья, 1991.– 200 с.

4. *Халмурадов А. Г.* Ниацин (Витамин PP) // Экспериментальная витаминология. – Минск: Наука и техника, 1979. – С. 411 – 435.
5. *Юденфренд С.* Флуоресцентный анализ в биологии и медицине. – М.: Мир, 1965 г. – С. 229 – 230.
6. *Индушко Г. И, Фусточенко Б. П., Горенштейн Б. И., Островский Ю. М.* О месте синтеза пируватдегидрогеназного комплекса в клетке // Докл. АН БССР. – 1988. – Т. 32, № 9. – С. 854 – 855.

О. В. Запорожченко, Л. М. Карпов, А. К. Будняк, А. В. Сорокин, О. А. Кокошкина
Одесский национальний университет, кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

СОДЕРЖАНИЕ ФЛАВИНОВЫХ И НИКОТИНАМИДНЫХ КОФЕРМЕНТОВ У КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ИМ НЕКОТОРЫХ СУБСТРАТОВ, ВИТАМИНОВ И РЕГУЛЯТОРОВ БИОСИНТЕЗА БЕЛКА

Резюме

Изучено действие регуляторов синтеза белков у крыс путем инъекций гидрокортизона, хлорамфеникола, субстратной смеси (пирувата и оксоглутарата) и витаминного комплекса (B_1, ФМН, никотинамид, пантотенат кальция, липоевая кислота, B_6) на содержание никотинамидных и флавиновых коферментов в органах крыс. Показано, что модификаторы биосинтеза белков влияют на содержание коферментов, причем этот процесс зависит также и от содержания в среде субстратов, к которым имеют отношение исследованные коферменты.

Ключевые слова: рибофлавин, никотиновая кислота, витаминный комплекс, гидрокортизон, хлорамфеникол, пируват, оксоглутарат

A. V. Zaporozchenko, L. M. Karpov, A. K. Budnyak, A. V. Sorokin, O. A. Kokoshkina
Odessa National I. I. Mechnikov University, Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

NICOTINAMID AND FLAVIN COENZYMES CONTENTS IN ORGANS OF RATS BY INJECTION OF SOME SUBSTRATES, VITAMINS AND REGULATORS OF PROTEIN BIOSYNTHESIS

Summary

It has studied the action of regulators of the synthesis of proteins in rats by injection of hydrocortisone, chloramphenicol, mixture of substrats (pyruvate and oxoglutarate) and vitamin complex on the contents of nicotinamid coenzymes and flavin coenzymes in organs of rats. It is shown that action of modifiers of the protein syntheses changes the process of biosyntheses of coenzymes and moreover this process depends upon the contents of environmental substratum, towards which the explored coenzymes have relations.

Keywords: riboflavin, nicotinic acid, vitamin complex, hydrocortisone, chloramphenicol, pyruvate, oxoglutarate

УДК 577.151/.152.

С. А. Петров, д-р біол. наук, проф., **М. Г. Магла,** асп.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра біохімії, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

УТРИМАННЯ МЕТАБОЛІТІВ ДЕЯКИХ ВІТАМІНІВ МІТОХОНДРІЯМИ ГЕПАТОПАНКРЕАСУ МІДІЙ ЗА УМОВ ЇХ ВИДІЛЕННЯ

В результаті досліджень ефективності утримання метаболітів різних вітамінів мітохондріями гепатопанкреасу мідій за їх виділення з'ясовано, що метаболіти тіаміну та нікотинової кислоти менш ефективно утримуються в мітохондріях, ніж метаболіти рибофлавіну, пантотенату та ліпоату. Це може бути пов'язано зі специфікою метаболізму вітамінів у тканинах мідій.
Ключові слова: мідії, мітохондрії, тіамін, метаболіти.

Метаболізм вітамінів в організмі безхребетних майже не досліджений. Біохімічні перетворення вітамінів в тканинах пов'язані з механізмами їх проникнення через біомембрани і утриманням їх метаболітів мембранними структурами [1]. У зв'язку з цим метою нашої роботи було дослідження ефективності утримання метаболітів різних вітамінів мітохондріями гепатопанкреасу мідій за їх виділення.

Матеріали та методи

Суть досліджень полягала в наступному. В 5 акваріумів з мідіями (Mytilus galloprovincialis) вносили в еквімолярних кількостях (4,6 мкМ/л води) такі вітаміни: ^{35}S-ліпоєву кислоту, ^{35}S-тіамін, ^{14}C-нікотинову кислоту, ^{14}C-пантотенову кислоту та рибофлавін – по одному вітаміну в кожний акваріум. Через 6 годин мідій виймали, швидко на холоді (0 – 4 °С) вилучали гепатопанкреас і гомогенізували у 9 об'ємах 0,25 М сахарози. Відбирали аліквотну пробу для визначення білка і розділяли весь гомогненат, що залишився, на дві рівні частини. Одну частину одразу центрифугували при 20000 g протягом 10 хвилин. Надосадну рідину зливали, а осад суспендували в 0,25 М сахарозі. Загальний об'єм суспензії дорівнював об'єму проби, взятої для центрифугування. Другу частину гомогенату центрифугували для виділення мітохондрій [2, 3, 4, 5]. Промитий осад мітохондрій, отриманих з 1 г тканини, суспендували в 10 мл 0,25 М сахарози і використовували для досліджень.

Вітаміни B_1, B_3, PP, і N визначали за методом радіоізотопної індикації, вміст вітаміну B_2 — за методом С. Юденфренда [6].

 © С. А. Петров, М. Г. Магла, 2003

Результати дослідження

Як свідчать результати, наведені у таблиці, метаболіти вітамінів B_1, B_2, B_3, PP і N у процесі виділення мітохондрій із гепатопанкреасу мідій поступають у середовище виділення з різною інтенсивністю.

Таблиця 1

Вихід метаболітів вітамінів B_1, B_2, B_3, PP і N із мітохондрій гепатопанкреасу мідій у процесі виділення органел (мкг/мг білка) (n = 9)

Вітаміни, введені у середовище	Статистичні показники	Метаболіти вітамінів в розрахунку на вихідний вітамін				
		Гомогенат	Седиментована фракція	Мітохондрії	Мітохондрії після 10-хв. промивання	Мітохондрії після 20-хв. промивання
B_1	M±м	0,383±0,059	0,036 ± 0,028	0,085±0,017	0,049 ± 0,015	0,013±0,006
	p_1	–	< 0,001	–	–	< 0,01
	p_2	–	–	–	< 0,05	
B_2	M±м	0,025±0,009	0,028±0,008	0,033±0,008	0,037±0,010	0,034±0,011
	p_1	–	> 0,05	–	–	–
	p_2	–	–	–	> 0,05	> 0,05
B_3	M±м	0,196±0,052	0,189±0,049	0,189±0,049	0,177±0,063	0,171±0,050
	p_1	–	> 0,05	–	–	–
	p_2	–	–	–	> 0,05	> 0,05
PP	M±м	0,101±0,018	0,095±0,014	0,042±0,006	0,026±0,002	0,012±0,004
	p_1	–	> 0,05	–	–	–
	p_2	–	–	–	< 0,05	< 0,01
N	M±м	0,565±0,061	0,586±0,065	0,592±0,043	0,571±0,065	0,521±0,070
	p_1	–	> 0,05	–	–	–
	p_2	–	–	–	> 0,05	> 0,05

Примітки: p_1 – достовірність різниці середніх відносно вмісту метаболітів у гомогенаті,
p_2 – достовірність відмінностей у порівнянні з непромитими мітохондріями

Похідні вітамінів B_2, B_3 і N утримуються біомембранами не тільки в процесі промивання мітохондрій, а й, можливо, під час гомогенізування тканин. Про це свідчить відсутність статистично достовірної різниці між кількістю вітамінів у гомогенаті та в седиментованій фракції, отриманій за центрифугування при 20000 *g* протягом 10 хвилин. Слід зазначити, що вміст метаболітів досліджуваних вітамінів у мембранних структурах клітин вищий, ніж у їх розчинній фракції. Відсутність достовірних відмінностей у кількості даних вітамінів у мітохондріях до і після промивань свідчить про ефективне утримання рибофлавіну, пантотенату та ліпоату мембранами мітохондрій. Щодо похідних вітаміну B_1, то після короткочасової гомогенізації їх вміст у мембранних структурах зменшується. В процесі наступ-

них промивань мітохондрій ці втрати ще більше зростають.Так, після першого 10-хвилинного промивання в мітохондріях гепатопанкреасу залишається 57,6% загальної кількості тіаміну, а після 20-хвилинного промивання – 15,3%. В дослідах з нікотиновою кислотою спостерігається дуже схожа закономірність. Після зазначених двох промивань кількість цього вітаміну у мітохондріях становить 61,9% і 28,6% відповідно.

Встановлена статистично достовірна різниця між вмістом загальних метаболітів нікотинату та тіаміну у гомогенаті і в седиментованій фракції. Проте, даний факт не можна вважати доказом, що метаболіти вітамінів виходять із мембранних структур під час гомогенізації. Можливо, за 6 годин, що пройшли після введення, дані вітаміни включалися не тільки в осаджувані нами структури, але також і в білки цитоплазми.

Таким чином, наші результати свідчать про те, що метаболіти тіаміну та нікотинової кислоти менш ефективно утримуються мембранними структурами, ніж метаболіти вітамінів B_2, B_3 і N.

Література

1. *Розанов А. Я.* Значение биомембран в метаболизме и реализации действия некоторых функционально-связанных витаминов // Укр. биох. журнал . – 1970. – Т. 42, №3. – С. 302.
2. *Вержбинская Н. А., Шапиро А. З.* Тканевой окислительный обмен мидий и его сезонные изменения / Физиология и биохимия беспозвоночных. – Л.: Наука, 1968. — С. 233 – 243.
3. *Коростелева Н. Л.* Свойства митохондрий при различных условиях культивирования // Биохимия митохондрий: Тезисы докладов. – М.: Наука, 1976. – С. 20.
4. *Шапиро А. З.* Исследование цитохромной системы в тканях мидий // Журнал эвол. биох. и физиол. – 1967. – Т. 3, №1. – С. 31-34.
5. *Шапиро А. З.* Энергетический обмен в тканях пластинчатожаберного моллюска Mitilus galloprovincialis // Автореф. ... канд. дис. – Ленинград. – 1969. – С. 43.
6. *Юденфренд С.* Флуоресцентный анализ в биологии и медицине. – М.: Мир, 1965.

С. А. Петров, М. Г. Магла

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра биохимии,

ул. Дворянская, 2, 65026, Украина

УДЕРЖИВАНИЕ МЕТАБОЛИТОВ НЕКОТОРЫХ ВИТАМИНОВ МИТОХОНДРИЯМИ ГЕПАТОПАНКРЕАСА МИДИЙ В УСЛОВИЯХ ИХ ВЫДЕЛЕНИЯ

Резюме

В результате исследований эффективности удерживания метаболитов разных витаминов в митохондриях гепатопанкреаса мидий установлено, что метаболиты тиамина и никотиновой кислоты менее эффективно удерживаются в митохондриях по сравнению с метаболитами рибофлавина, пантотената и липоата.Это может быть связано со спецификой метаболизма витаминов в тканях мидий.

Ключевые слова: мидии, митохондрии, тиамин, метаболиты.

S. A. Petrov, M. G. Magla
Odessa National I. I. Mechnikov University, Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya, 2, Odessa, 65026, Ukraine

STUDIES OF THE VITAMINES METABOLITES DEDUCTION IN MITOCHONDRIONS OF MUSSELS HEPATOPANCREAS UNDER THE CONDITION OF ITS SEPARATION

Summary

It was determined in the result of the investigations of efficiency of maintenanse metabolic products of different vitamines in mitochondrions of mussels hepatopancreas, that metabolic products of tiamine and nicotinate are less effectively maintain in mitochondrions in comparison with metabolic products of rhiboflavine, pantotenate, lipoate.It can be connected with the particularity of vitamines' metabolism in the mussels tissues.

Key words: mussels, metabolic products, mitochondrions, tiamine.

УДК 577.616.038.001

Н. Л. Федорко, ст. викл.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра біохімії, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ВІТАМІНО-КОФЕРМЕНТНА КОРЕКЦІЯ АКТИВНОСТІ ПІРУВАТДЕГІДРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСУ В ОРГАНАХ ЩУРІВ В ОНТОГЕНЕЗІ

При вивченні можливості корекції загальної активності мультиензимного піруватдегідрогеназного комплексу в тканинах щурів шляхом ін'єкцій функціонально-пов'язаних вітамінів встановлено, що найбільш ефективним є застосування вітамінів для старих тварин, в тканинах яких спостерігається певний дефіцит вітамінів. У молодих тварин більш чутливою до введення вітамінів була активна форма піруватдегідрогеназного комплексу. Дослідження активності піруватдегідрогенази в ізольованих мітохондріях і на рівні очищеного ферменту підтвердили результати дослідів на тканинному рівні.
Ключові слова: старіння, вітаміни, піруватдегідрогеназа

У розвитку процесу старіння визначна роль належить молекулярно-клітинним механізмам [1, 2]. На тлі загального зниження інтенсивності обміну речовин особливо помітне погіршення енергетичного обміну, що супроводжується зниженням інтенсивності реакцій окиснювального фосфорилювання, його зв'язку з тканинним диханням, порушенням синтезу макроергічних фосфатних сполук [3]. При старінні суттєво зменшується потреба у вітамінах та забезпеченість ними організму [4]. Відбувається зміна взаємодії між коензимами та відповідними ферментами, зниження активності численних ферментів енергетичного обміну і багатьох біосинтетичних процесів [5, 6].

Метою наших досліджень було вивчення впливу функціонально-пов'язаних вітамінів на загальну активність і долю активної частини піруватдегідрогенази (ПДГ) на рівні тканин, мітохондрій та очищеного ферменту у білих щурів різного віку.

Матеріали і методи

Експерименти провадили на щурах лінії Вістар трьох вікових груп (2 - 3 тижні – молоді, 3 - 4 міс. – статевозрілі, 24 - 26 міс. – старі). Кожну вікову групу тварин поділяли на дві підгрупи, в яких тваринам внутрішньом'язово вводили фізіологічний розчин (ФР) або вітамінний комплекс (ВК) по 0,2 мл на 100 г ваги. Дози вітамінів у складі ВК були такими (в мкмоль / кг ваги): тіамін – 16,9, флавінмононуклеотид – 4,2, пантотенат-Са – 113,6, піридоксин – 24,3, ліпоєва кислота – 9,7, нікотинамід – 163,9.

 © Н. Л. Федорко, 2003

Через 2 години після ін'єкцій тварин брали у дослід і визначали в органах дві форми активності ПДГ: активну долю [4] і загальну активність [7]. Виділення мітохондріальної фракції провадили за методом Джонсона та Ларді [8]. Очищений фермент отримували за методом Роше та Кейт [9]. Склад коферментів та їх мілімолярні співвідношення в коферментному комплексі (КК), що додавали в інкубаційне середовище, був таким: ТПФ – 0,015, НАД$^+$ – 0,6, КоА – 0,375, ЛК – 0,225, ФМН – 0,075.

Результати досліджень

Результати дослідження активності ПДГ в тканинах щурів в онтогенезі за умов екзогенного введення вітамінів представлені в таблиці 1. Наведені дані свідчать про те, що в нормі активна частина ПДГ в тканинах молодих і старих щурів найбільш висока у серці і нирках, а у статевозрілих – у серці і мозку. Загальна активність ферменту у молодих і старих тварин найвища в серці, а найменша – в мозку. У статевозрілих тварин цей показник виявився найбільшим у мозку, а найнижчим – у печінці.

Високі значення обох досліджуваних форм активності ПДГ у серці контрольних тварин різного віку, можливо, пов'язані з високим вмістом у міокарді більшості вітамінів і узгоджуються з даними літератури [10, 11, 12].

Найбільша активність обох форм ПДГ у досліджених органах виявлена у статевозрілих тварин. Слід зазначити, що висока активність ПДГ у щурів співпадає з рівнем забезпеченості їх вітамінами, що узгоджується з результатами інших авторів [13, 14].

В процесі старіння виявлено зниження загальної активності ПДГ в усіх органах щурів, особливо в тканинах мозку.

Після введення ВК в досліджуваних тканинах усіх вікових груп тварин виявлено достовірне збільшення активної долі ПДГ і її загальної активності, проте в кожній віковій групі спострігалися свої особливості.

Узагальнюючи отримані результати, можна говорити про позитивний ефект ВК в усіх вікових групах, а особливо у дорослих і старих тварин.

Результати дослідження впливу комплексу коферментів (КК) на активність ПДГ із мітохондрій печінки щурів різного віку представлені в табл. 2.

Найбільші значення обох форм активності ПДГ спостерігали у статевозрілих тварин як контрольної, так і дослідної групи, що повністю узгоджується з даними літератури [15, 16, 17].

Додання *in vitro* КК збільшує активність обох форм ПДГ у мітохондріях печінки всіх вікових груп тварин. Активна доля ПДГ із мітохондрій печінки щурів найбільш помітно збільшується у молодих тварин і значно менше – у старих, що узгоджується з результатами експериментів на тканинному рівні.

Отримані дані можна пояснити тим, що у старих тварин спостерігається зниження всмоктування у шлунково-кишковому тракті, ослаблення печін-

Таблиця 1

Активність ПДГ в органах щурів різного віку після ін'єкцій вітамінного комплексу (мкмоль НАДН$^{+}$·хв$^{-1}$·г$^{-1}$ тканини), n = 8

Органи	Форма активності ПДГ	Молоді (2 - 3 тиж.)		Статевозрілі (3 - 4 міс.)		Старі (24 - 26 міс.)	
		Контроль	+ВК	Контроль	+ВК	Контроль	+ВК
Печінка	Активна частина	1,17±0,03	1,40±0,03*	1,76±0,04^{x}	2,47±0,06*^{x}	0,87±0,02^{x}	1,86±0,04*^{x}
	Загальна активність	2,54±0,10	4,41±0,09*	3,05±0,05^{x}	4,88±0,11*^{x}	1,28±0,03^{x}	2,61±0,06*^{x}
Нирки	Активна частина	1,79±0,04	2,21±0,02*	2,63±0,06^{x}	5,01±0,11*^{x}	1,95±0,04	2,54±0,13*^{x}
	Загальна активність	2,54±0,08	2,81±0,07	3,43±0,07^{x}	9,29±0,32*^{x}	2,13±0,07^{x}	3,95±0,25*^{x}
Мозок	Активна частина	0,93±0,02	1,00±0,02	3,31±0,06^{x}	5,03±0,13*^{x}	1,07±0,03	2,67±0,10*^{x}
	Загальна активність	1,60±0,06	2,10±0,05*	6,67±0,26^{x}	12,58±0,29*^{x}	1,20±0,03^{x}	3,62±0,09*^{x}
Серце	Активна частина	1,83±0,05	2,34±0,06*	4,65±0,13^{x}	6,49±0,22*^{x}	3,51±0,11^{x}	5,48±0,15*^{x}
	Загальна активність	3,77±0,12	6,23±0,21*	5,03±0,17^{x}	14,80±0,50*^{x}	3,18±0,13^{x}	10,46±0,35*^{x}

Примітки: 1) * – зміни вірогідні у порівнянні з контролем; 2) ^{x} – зміни вірогідні у порівнянні з групою молодих тварин

ково-шлункової рециркуляції, а також порушення біохімічних процесів на рівні біомембран [18], що призводить до зниження активності окиснення пірувату в загальній мітохондріальній фракції [19].

Таблиця 2

Вплив комплексу коферментів (КК), доданих *in vitro*, на активність ПДГ мітохондрій печінки щурів різного віку, мкмоль НАДН$^{+}$·хв$^{-1}$·мг$^{-1}$ білка, n = 8

Форма активності ПДГ	Молоді (2 - 3 тиж.)		Статевозрілі (3 - 4 міс.)		Старі (24 - 26 міс.)	
	Контроль	+КК	Контроль	+КК	Контроль	+КК
Активна частина	0,11 ± 0,004	0,31 ± 0,008*	0,15 ± 0,01^{x}	0,35 ± 0,02^{x}	0,12 ± 0,006	0,22 ± 0,01*^{x}
Загальна активність	0,41 ± 0,03	0,60 ± 0,02*	0,57 ± 0,03^{x}	0,72 ± 0,04	0,33 ± 0,02	0,44 ± 0,002^{x}

Примітки: 1) * – зміни у порівнянні з контролем вірогідні;

2) ^{x} – зміни вірогідні у порівнянні з групою молодих тварин

Процентний вміст активної частини ПДГ відносно загальної активності цього ферменту збільшувався з віком у контрольній групі тварин. Після застосування КК зазначена залежність від віку тварин зникала, хоч відсотковий вміст активної частини ферменту відносно загальної активності в усіх вікових групах зростав майже в 2 рази.

Зазначені дані, отримані на ізольованих мітохондріях печінки щурів, узгоджуються з дослідженнями на частково очищеному ферменті, активованому комплексом коферментів. Ці дані відображені в табл. 3. Активність частково очищеного ферменту, отриманого від тварин усіх вікових груп, на два порядки вища, ніж відповіда активність в ізольованих мітохондріях.

Після додання КК спостерігали збільшення активності ПДГ порівняно з контролем в усіх вікових групах, але найбільше зростання як активної частини, так і загальної активності ферменту спостерігали у молодих тварин. Однак, процентний вміст активної частини ПДГ відносно загальної активності ферменту у молодих тварин контрольної групи був найменшим. Після додання КК різниця між віковими групами практично зникала. Активна частина ферменту у цьому випадку складала більше 80% від повної його активності.

Є підстава вважати, що встановлені нами закономірності відзеркалюють взаємодію коферментів з субодиницями ПДГ на мітохондріальних мембранах печінки щурів. Ця точка зору добре узгоджується з даними літератури [15, 20] про динаміку активності ПДГ протягом життя тварин [5, 12] і відкриває нові можливості щодо регуляції ПДГ в онтогенезі.

Таблиця 3

Вплив комплексу коферментів (КК), доданих *in vitro*, на частково очищений фермент ПДГ, виділений з печінки щурів різного віку, мкмоль НАДН$^{+}$·хв$^{-1}$·мг$^{-1}$ білка, n = 8

Форма активності ПДГ	Молоді (2 - 3 тиж.)		Статевозрілі (3 - 4 міс.)		Старі (24 - 26 міс.)	
	Контроль	+КК	Контроль	+КК	Контроль	+КК
Активна частина	3,35 ± 0,20	22,62 ± 1,40*	13,03 ± 0,76	17,28 ± 1,10^{x}	9,37 ± 0,84	13,82 ± 0,95
Загальна активність	6,82 ± 0,56	25,50 ± 2,00*	15,85 ± 0,86	19,17 ± 1,03	10,66 ± 0,90	15,99 ± 1,20^{x}

Примітки: 1) * – зміни вірогідні порівняно з контролем;

2) ^{x} – зміни вірогідні у порівнянні з відповідними показниками молодих тварин

Література

1. *Ванюшин Б. Ф., Бердышев Г. Д.* Молекулярно-генетические механизмы старения. – М.: Наука, 1977. – 300 с.
2. *Фролькис В. В.* Геронтология: прогнозы и гипотезы // Вестник НАН Украины. – 1999. – № 7. – С. 28 – 40.
3. *Струмило С. А., Виноградов В. В.* Витаминзависимые ферменты надпочечников (дегидрогеназы 2-оксокислот). – Минск: Наука и техника, 1988. – 214 с.
4. *Підручна С. Р.* Порушення процесів енергозабезпечуючого окиснення з урахуванням віку // Вісник наукових досліджень. – 1998. – № 3 - 4. – С. 12 – 15.
5. *Лемешко В. В., Белостоцкая Л. И.* Трансформация энергии в митохондриях печени крыс при старении // В кн.: Механизмы онтогенеза и их регуляция. – К., 1987. – С. 207 – 212.
6. *Хмелевский Ю. В., Подберезкина Н. Б.* Витамины и возраст человека. – К.: Наукова думка, 1990. – 166 с.
7. *Покровский А. А., Арчаков А. И.* В кн.: Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1968. – С. 5.
8. *Jonson D., Lardy H.* Methods in enzymology // New York. – 167. – V. 10. – P. 94 – 102.
9. *Roche I. E., Cate R. J.* Purification of porcine liver pyruvate dehydrogenase complex and characterization of its catalitic and regulatory properties // Arch. of Biochem and Biophys. – 1977. – V. 183. – P. 664 – 667.
10. *Богатская Л. Н., Ступина А. С., Калиман П. А.* Особенности энергетического обмена и его регуляция в процессе старения // Геронт. и гериатрия: Ежегодник. – 1985; Старение, механизмы, патология, образ жизни. – К., 1985. – С. 34 – 44.
11. *Зелезинская Г. А., Никишин И. А., Блекни А. Е.* Биохимические аспекты влияния витаминов на процессы старения. — Минск: Наука и техника, 1979. — 128 с.
12. *Полтавцева Н. В., Васильєва Т. В., Карпов Л. М., Анісімов В. Ю., Єршова О. М.* Дія вітамінного комплексу на показники енергетики в тканинах щурів різного віку // Вісник ОДУ. – 2000. – Т. 5, вип. 1. – С. 30 – 34.

13. *Дьяченко Л. Ф.* Онтогенетические особенности окисления пирувата митохондриями при витаминной и субстратно-гормональной индукции: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Одесса, 1968.
14. *Кравченко Н. А.* Возрастные особенности окисления пирувата в митохондриях и тканях крыс и биохимическое обоснование применения "Тетрапирувита-Na" в гериатрии: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Киев, 1990. – 16 с.
15. *Розанов А. Я., Карпов Л. М.* Возрастные особенности динамики поступления в ткани крыс парэнтерально введенных ^{35}S-тиамина и его фосфорных эфиров // Укр. биохим. журн. – 1981. – Т. 53. – № 6. – С. 58 - 64.
16. *Розанов А. Я.* Локалізація біосинтезу субодиниць дегідрогеназ α-кетокислот у гепатоцитах та перерозподіл їх з коферментами в мітохондріях // V Укр. біохім. з'їзд (м. Івано-Франківськ, вересень 1987). – Київ, 1987. – С. 135.
17. *Розанов А. Я., Федорко Н. Л., Петров С. А.* Онтогенетические особенности накопления и обновления тиамина в органах пищеварительной системы белых крыс // Физиол. журн. – 1989. – Т. 35. - № 1. – С. 68-71.
18. *Розанов А. Я.* Фазовая динамика метаболизма в печени коферментных витаминов, ее механизмы и биологическое значение // Витамины. – 1976. – Вып. 9. – С. 34-42.
19. *Обмен* витаминов B_2, B_3 и PP в онтогенезе белых крыс / Карпов Л. М., Савлучинская Л.Г., Будняк А. К., Сорокин А. В. // Биол. вестник ХГУ. – 1998. – Т. 2, № 2. – С. 46-50.
20. *Структурно*-функциональные изменения свойств митохондрий печени крыс при старении / Белостоцкая Л. И., Козлова Е. В., Миронова Н. Г. и др. // V Всесоюз. съезд геронтологов и педиатров (Тбилиси, ноябрь 1988 г.): Тез. докл. – 1988. – С. 66.

Н.Л. Федорко
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ВИТАМИННО-КОФЕРМЕНТНАЯ КОРРЕКЦИЯ АКТИВНОСТИ ПИРУВАТДЕГИДРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСА В ОРГАНАХ КРЫС В ОНТОГЕНЕЗЕ

Резюме

При изучении возможности коррекции общей активности мультиэнзимного пируватдегидрогеназного комплекса в тканях крыс путем инъекций функционально-связанных витаминов установлено, что наиболее эффективным является применение витаминов для старых животных, в тканях которых наблюдается определенный дефицит витаминов. У молодых животных более чувствительной к введению витаминов была активная форма пируватдегидрогеназного комплекса. Исследования пируватдегидрогеназной активности в митохондриях и на уровне очищенного фермента подтвердили результаты опытов на тканевом уровне.

Ключевые слова: старение, витамины, пируватдегидрогеназа.

N. L. Fedorko
Odessa National I. I. Mechnikov University, Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

VITAMINE-COENZYME CORRECTION OF PYRUVATE DEHYDROGENASE COMPLEX ACTIVITY IN RATS TISSUES UNDER ONTOGENESIS

Summary

The investigations of multienzyme pyruvate dehydrogenase complex common activity correction in rat tissues by functionally-bound vitamines injection determines that using of vitamines is the most effective for old animals, in tissues of which vitamine deficiency presents. For young animals the active form of PDC was more sensitive to vitamine introduction.

The studies of mitochondrial pyruvate dehydrogenase activity and on the level of partially purified enzyme agreed with the results of experiments on the tissue level.

Key words: aging, vitamins, pyruvate dehydrogenase .

БОТАНІКА,
ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

УДК 581.526.323(282.243.75.3)

В. П. Герасимюк, канд. біол. наук, доц.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра ботаніки, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ФЛОРІСТИЧНИЙ АНАЛІЗ ВОДОРОСТЕЙ БЕНТОСУ ПРИДУНАЙСЬКИХ ВОДОЙМ

Досліджено мікрофітобентос Придунайських водойм, в якому знайдено 145 видів водоростей, які належать до 46 родів, 27 родин, 13 порядків, 9 класів та 5 відділів. З них 15 видів у Придунайських озерах виявлено вперше. Основу видовоі різноманітності складають діатомові водорості (122 види), зелені (13) та синьо-зелені (5) водорості.
Ключові слова: Придунайські водойми, мікрофітобентос, водорості.

Водорості мікрофітобентосу відіграють помітну роль у живленні багатьох гідробіонтів Придунайських озер. Вони являють собою важливі первинні продукти, з яких починається більшість їстівних ланцюгів. Ці ланцюги через зоопланктон, ракоподібних доходять до риб. Зазначені водорості є джерелом їжі для тварин (амеб, інфузорій, нематод, коловерток, молюсків, веснянок, поденок та інших), в тому числі риб (товстолоба, червоноперки, тарані, верховодки, ляща, коропа). Відмираючи, вони дають багато детриту, яким живляться бактерії, нематоди, молюски [1]. Загальновідомо, що водорості є гарними індикаторами стану водних екосистем.

Проте, незважаючи на велике значення цієї групи водоростей, вони ще недостатньо вивчені. Це в повній мірі відноситься і до Придунайських озер — району наших досліджень. Крім того, за останні 40 років [2, 3] сталися помітні зміни у гідрологічному режимі Придунайських водойм, спричинені дією насамперед антропогенних чинників.

Метою роботи є вивчення сучасного стану водоростей бентосу Придунайських озер. Дослідження водоростей цих водойм дає можливість з більшою точністю прогнозувати зміни в угрупованнях гідробіонтів озер, раціонально використовувати їх ресурси.

Матеріали та методи дослідження

Матеріалом для досліджень були проби, зібрані щомісячно на озерах Ялпуг і Кугурлуй і щоквартально на озерах Кагул, Катлабух і Китай в 2000 – 2002 роках. Крім того, в 2000 році досліджували також матеріал із озера Картал. Всього було зібрано і оброблено 224 проби, виготовлено 78 постійних препаратів. Ідентифікацію видового складу водоростей здійснювали за допомогою світлового мікроскопа „Біолам 70”. Збір і обробку водоростей здійснювали за загальноприйнятими методиками [4].

© В. П. Герасимюк, 2003

Для порівняльної характеристики водоростей флор Придунайських водойм були розраховані наступні інформаційні індекси: H_{SF} – показник складності структури родин по кількості видів, H_{GF} – показник складності структури родин по кількості родів і H_{SG} – показник складності структур родів по кількості видів. Для їх розрахунку була використана відома функція Шеннона-Уівера (або Н-функція), яка має вид

$$H = -p_i \log_2 p_i,$$

де за вірогідність p_i приймали спостережену стрівальність даного таксону нижчого рангу в складі кожного таксону вищого рангу.

Разом з показниками були розраховані межі їх мінливості і дисперсії.

При розрахунках цих величин використовували методи, викладені в роботі В. М. Шмідта [5].

Результати й обговорення

За період дослідження в мікрофітобентосі Придунайських водойм знайдено 145 видів, які належать до 46 родів, 27 родин, 13 порядків, 9 класів та 5 відділів (табл.1).

Таблиця 1

Таксономічний спектр мікрофітобентосу Придунайських водойм

Відділ	Кількість					
	класів	порядків	родин	родів	видів	різновидів
Bacillariophyta	2	5	17	35	122	130
Chlorophyta	3	4	5	5	13	13
Cyanophyta	2	2	3	4	5	5
Chrysophyta	1	1	1	1	3	3
Euglenophyta	1	1	1	1	2	2
Усього	9	13	27	46	145	153

Найбільш різноманітно були представлені діатомові водорості – 122 види (84,1 %), значно менша різноманітність характерна для зелених – 13 видів (9 %), синьо-зелених – 5 видів (3,5 %), золотистих – 3 види (2,1 %), евгленових – 2 види (1,3 %). За вивчення мікрофітобентосу Придунайських водойм було знайдено 15 нових для цих озер видів. Серед них: Synedra vaucheriae Kütz., Lyrella pygmaea (Kütz.) Makar et Kar., Navicula costulata Grun., Navicula cuspidata Kütz., N. heufleriana (Grun.) Cl., N. mutica var. ventricosa (Kütz.) Cl., N. tuscula (Ehr.) Grun., Stauroneis smithii Grun., Pinnularia gibba Ehr.,Caloneis schumanniana var. biconstricta Grun.,Diploneis oculata (Breb.) Cl., Gomphonema truncatum Ehr., Nitzschia acuta Hantzsch., N. dubia W. Sm., Scenedesmus helveticus Chodat.

Флори водоростей Придунайських озер можна порівнювати між собою, оскільки вони задовольняють загальним і основним принципам порівнювання флор [6]. Ці водойми приблизно рівні за площею, мають обмежений розмір акваторії та характеризуються високим ступенем флористичної вивченості.

Максимальну кількість видів (106) виявлено в озері Кугурлуй, мінімальну – в Катлабуху (62 види), в інших озерах кількість видів коливалася від 63 до 75 (табл. 2).

Таблиця 2

Показники флористичного багатства мікрофітобентосу Придунайських водойм

Назви озер	Кількість					
	відділів	класів	порядків	родин	родів	видів
Кугурлуй	3	6	9	22	36	106
Кагул	4	6	8	18	31	75
Ялпуг	4	6	7	19	32	74
Китай	5	7	9	21	32	68
Картал	3	5	6	18	26	63
Катлабух	4	6	8	19	29	62

Для порівняння флор водойм нами були розраховані показники систематичної різноманітності, до яких відносяться „пропорції флори”: середня кількість видів в родині (в/р), середня кількість родів в родині (р/р) та середня кількість видів в роді (в/р’). „Пропорції флори”, які є простими відношеннями показників флористичного багатства, корелюють (r=0,95) з показниками флористичного багатства (табл. 3). Так, відношення в/р для Кугурлуя склало 4,82; Кагула – 4,17; Ялпуга – 3,90; Картала – 3,50; Катлабуха – 3,26 та Китая – 3,24. Між кількістю видів та відношенням в/р’ зареєстрований ще вищий (r = 0,97) коефіцієнт кореляції. Значно менша кореляція спостерігається у випадку відношення р/р (r = 0,42).

Найбільш різноманітними в усіх водоймах були роди Nitzschia, Navicula, Cymbella, Surirella, Scenedesmus, Caloneis, Gyrosigma, Synedra, Diploneis і Pediastrum. Тільки для Кагула характерні роди Sceletonema, Volvox, для Катлабуха - Pleurosira, Hantzschia, Китая - Merismopedia, Кугурлуя – Ulothrix. В озерах Ялпуг і Картал специфічних родин та видів не знайдено. Для акваторії Катлабуха характерна родина Biddulphiaceae, Китая – Merismopediaceae, Кагула – Volvocaceae та Кугурлуя – Ulothrichophyceae.

Таблиця 3

Показники систематичної різноманітності флор водоростей Придунайських озер

Назви озер	Показники систематичної різноманітності флор		
	в/р	р/р	в/р'
Кугурлуй	4,82	1,64	2,94
Кагул	4,17	1,72	2,42
Ялпуг	3,90	1,68	2,31
Картал	3,50	1,44	2,42
Катлабух	3,26	1,53	2,14
Китай	3,24	1,52	2,13

Облік даних про кількість видів 10 родин, які займають в кожній конкретній флорі панівне становище, дає, як відомо, уявлення про її систематичну структуру. Перелік провідних 10 родин в усіх озерах повторюється майже без змін (табл. 4). Родини Naviculaceae, Nitzschiaceae, Cymbellaceae і Surirellaceae мали найбільшу видову різноманітність. При цьому сумарна кількість видів 10 родин складає в Придунайських водоймах 4/5 видового складу порівнювальних флор.

Для визначення складності систематичної структури кожної із порівнювальних флор розраховані наступні інформаційні індекси: H_{SF}, H_{GF} і H_{SG} (табл. 5).

Інформаційні індекси відображають складність систематичної структури флор і при цьому мають найменші значення у найбільш бідної таксонами флори. Такою флорою виявилася флора водоростей озера Кагул. Для флор озер Ялпуг и Кугурлуй характерний більш рівномірний розподіл, що свідчить про більшу складність систематичної структури. Необхідно також зазначити, що мінімальні значення були зареєстровані для H_{SF}, а максимальні – для H_{SG}.

Таблиця 4

Провідні по кількості видів родини у складі флор Придунайських озер (%)

Родини	Назви озер					
	Кугурлуй	Кагул	Ялпуг	Китай	Картал	Катлабух
Naviculaceae	28,3	34,7	24,3	29,4	30,2	20,6
Nitzschiaceae	23,6	13,3	18,9	13,2	12,7	19,1
Cymbellaceae	8,5	9,3	8,1	5,9	12,7	7,4
Surirellaceae	7,6	12,0	9,5	7,4	3,2	8,8
Fragilariaceae	6,6	5,3	8,1	5,9	9,5	1,6
Achnanthaceae	2,8	2,7	4,1	4,4	1,9	3,2
Gomphonemataceae	2,8	–	4,1	2,9	4,8	6,5
Stephanodiscaceae	2,8	2,7	1,4	1,5	3,2	3,2
Oscillatoriaceae	1,9	1,3	4,1	1,5	–	1,6
Scenedesmaceae	1,9	1,3	2,7	5,9	4,8	3,2
Усього	86,8	82,6	85,3	78,0	83,0	75,2

Таким чином, в результаті порівнювального аналізу встановлено, що флори Придунайських озер за таксономічними спектрами, показниками флористичного багатства і систематичної різноманітності, по провідних родинах, а також за інформаційними показниками складності систематичної структури флор відрізняються одна від одної.

Висновки

1. Серед водоростей мікрофітобентосу Придунайських озер знайдено 145 видів, які належать до 46 родів, 27 родин, 13 порядків, 9 класів та 5 відділів. З них 15 видів виявлені у цих водоймах вперше.

2. Провідна роль в досліджуваній альгофлорі належить відділам: діатомові (122 види), зелені (13) і синьо-зелені (5) водорості.

Таблиця 5

Інформаційні показники складності систематичної структури флор водоростей мікрофітобентосу Придунайських озер

Назви озер	Індекси	H	H_{max}	H_{min}	$H'=\frac{H}{H_{max}}$	var. H
Ялпуг	H_{SF}	3,4330	4,1699	1,7148	0,8233	0,1068
	H_{GF}	3,9541	4,2479	3,3395	0,9308	0,1226
	H_{SG}	4,2067	4,9999	3,0533	0,8414	0,1266
Кугурлуй	H_{SF}	3,3430	4,4594	1,6014	0,7545	0,1354
	H_{GF}	4,1051	4,3923	3,3949	0,9346	0,0467
	H_{SG}	4,3244	5,1699	2,5993	0,8365	0,0776
Катлабух	H_{SF}	3,5053	4,2479	2,0760	0,8252	0,1087
	H_{GF}	4,0181	4,2479	3,5476	0,9459	0,0399
	H_{SG}	4,3271	4,8580	3,1586	0,8907	0,0587
Кагул	H_{SF}	3,2470	4,1699	1,6944	0,7787	0,1421
	H_{GF}	3,8464	4,1699	2,7204	0,9224	0,0613
	H_{SG}	4,3323	4,9542	2,9264	0,8745	0,0624
Китай	H_{SF}	3,6443	4,3923	2,1443	0,8297	0,1082
	H_{GF}	4,0527	4,3923	3,6615	0,9227	0,0585
	H_{SG}	4,5389	4,9999	3,2516	0,9078	0,0474
Картал	H_{SF}	3,3995	4,1699	1,9475	0,8153	0,0119
	H_{GF}	3,9189	4,1699	3,6067	0,9398	0,0477
	H_{SG}	4,0944	4,7004	2,8166	0,8711	0,0725

Література

1. *Жизнь* животных. Т. 1-7 // Под ред. академика АН СССР Соколова В.Е. – М.: Просвещение, 1983-1989: 1987. –Т. 1. – 446 с.; 1988. –Т. 2. – 446 с.; 1984. –Т. 3. – 462 с.; 1983. – Т. 4. – 574 с.
2. *Владимирова К. С.* Микрофитобентос придунайских лиманов // Вопросы экологии. – 1957. – Т. 1. – С. 12-20.
3. *Владимирова К. С.* Микрофитобентос придунайских лиманов // Труды ин-та гидробиологии АН УССР. – 1961. – Т. 36. – С. 242 – 262.
4. *Водоросли*: Справочник / С. П. Вассер, Н. В. Кондратьева, Н. Л. Масюк и др. – К.: Наук. думка, 1989. – 608 с.
5. *Шмидт В. М.* Математические методы в ботанике. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1984. – 288 с.
6. *Толмачев А. И.* Введение в географию растений. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1974. – 244 с.

В. П. Герасимюк
Одесский национальний университет им. И. И. Мечникова, кафедра ботаники, ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ФЛОРИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВОДОРОСЛЕЙ БЕНТОСА ПРИДУНАЙСКИХ ВОДОЕМОВ

Резюме

Исследован микрофитобентос Придунайских водоемов, в котором обнаружено 145 видов водорослей, относящихся к 5 отделам, 9 классам, 13 порядкам, 27 семействам и 46 родам. Из них 15 видов в Придунайских озерах найдено впервые. Основу видового разнообразия составляют диатомовые (122 вида), зеленые (13) и сине-зеленые (5) водоросли.

Ключевые слова: Придунайские водоемы, микрофитобентос, водоросли.

V. P. Gerasimyuk
Odessa National I. I. Mechnikov University, Department of Botany, Dvoryanskaya St.,2, Odessa, 65026, Ukraine

FLORISTIC ANALYSIS OF BENTHOS ALGAE OF DANUBE SIDE LAKES

Summary

The microphytobenthos of the Danube Side Lakes was studied. It has been found 145 species of algae, belonging to 5 divisions, 9 classes, 13 orders, 27 families and 46 genera. 15 species of them were new for the Danube Side Lakes. The highest proportion of species diversity is presented by diatoms (122 species), green algae (13) and blue-green algae (5).

Key words: Danube Side Lakes, microphytobenthos, algae.

УДК 634.8:581.134.2

Н. М. Зеленянська, асп.
Інститут виноградарства і виноробства ім. В. Є. Таїрова, лабораторія розмноження винограду,
вул. 40-річчя Перемоги, 27, смт. Таїрово, 65496, Україна

ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ ГУМІСОЛ НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ І РЕГЕНЕРАЦІЙНІ ПРОЦЕСИ В ТКАНИНАХ ЛОЗИ ПІДЩЕПНИХ СОРТІВ ВИНОГРАДУ

В період вегетації маточні кущі підщепних сортів винограду, які відрізняються різними регенераційними властивостями тканин, обприскували розчинами фізіологічно-активного препарату гумісол. Обробку провадили в три строки розвитку рослин одноразово, дворазово і триразово розчинами трьох концентрацій. Встановлено, що препарат стимулює в тканинах оброблених рослин процеси синтезу: в лозі збільшується накопичення вуглеводів, пігментів, підвищується обводнення тканин. Поліпшення фізіологічного стану лози позитивно вплинуло на процеси регенерації чубуків: підвищилося калюсо- і коренеутворення на копуляційних зрізах чубуків і щеп. Визначені найбільш ефективні строки обробок і оптимальні концентрації розчинів препарату.
Ключові слова: підщепа, вуглеводи, хлорофіл, каротиноїди, вода, щепи, чубуки, виноград.

Збільшення виробництва щеплених виноградних саджанців з одночасним поліпшенням їх якості є однією з умов розвитку виноградарства. Вихід стандартних саджанців визначається, в основному, трьома комплексами факторів: а) внутрішніми (ендогенними) факторами; б) факторами процесу щеплення та стратифікації; в) факторами вегетації щеп у шкілці [1]. Для успішного виробництва саджанців найважливішим є комплекс внутрішніх факторів. По-перше, чубуки вихідного матеріалу підщепи і прищепи повинні мати всі фізіологічні властивості, необхідні для біполярної регенерації. По-друге, вони мають перебувати у такому фізіологічному та анатомічному стані, в якому вони здатні витримати навантаження технології виробництва. Тому на маточниках підщеп та прищеп уже в період вегетації необхідно забезпечити такий комплекс умов, який сприяв би поліпшенню фізіологічного стану лози.

Відомо, що в регуляції фізіолого-біохімічного стану рослин важливу роль відіграють різноманітні регулятори росту [2]. Останнім часом їх широко почали використовувати і в виноградарстві. Так, на плодоносних виноградниках використовують фізіологічноактивні речовини (ФАР) для регуляції ростових процесів, підвищення продуктивності та стійкості [3]. В розсадництві ФАР застосовують для поліпшення регенераційних процесів у щеп винограду [4]. Були окремі спроби використати регулятори росту на маточ-

© Н. М. Зеленянська, 2003

никах підщепних лоз з метою підвищення виходу якісних чубуків [5, 6], проте ці дослідження не супроводжувалися вивченням фізіологічних особливостей чубуків.

У зв'язку з цим, метою наших досліджень було з'ясування впливу обприскування вегетуючих маточних кущів підщепи винограду розчинами гумісолу на якість лози, накопичення в її тканинах метаболітів, а також кореляції цих показників з процесами калюсо- і коренеутворення.

Матеріали і методи досліджень

Дослідження виконані в лабораторії розмноження винограду Інституту виноградарства і виноробства ім. В. Є. Таїрова. Вивчали дію препарату вітчизняного виробництва – гумісолу. Це препарат органічного походження, екологічно чистий, до складу якого входять гумати, фульвокислоти, амінокислоти, макро- і мікроелементи; характеризується високою фізіологічною активністю.

Об'єктом вивчення були районовані на півдні України підщепні сорти винограду Ріпаріа х Рупестріс 101-14 (синонім Р х Р 101-14) та Берландієрі х Ріпаріа СО4 (синонім Б х Р СО4), які відрізняються ступенем регенерації. В період вегетації дослідні кущі обприскували розчинами гумісолу трьох концентрацій (гумісол : вода 1 : 10; 1 : 20; 1 : 30). Обприскування провадили одноразово - за 10-12 днів до цвітіння, дворазово – за 10-12 днів до цвітіння + після цвітіння і триразово – за 10-12 днів до цвітіння + після цвітіння + перед дозріванням ягід. Контроль (без обприскування) здійснювали відповідно до кожного строку обробки. Кожен варіант складав 20 кущів. В листопаді – грудні провадили заготівлю лози з дослідних кущів і визначали вихід якісних чубуків для щепи по варіантах. Окремо по кожному варіанту складали середню пробу чубуків (по 10 в 3-х повторностях) для проведення фізіолого-біохімічних аналізів. Обводнення тканин лози визначали ваговим методом [7], вміст хлорофілів "а", "b" і каротиноїдів - ацетоновим методом по Т.Н.Годневу [8]. Розрахунок вмісту цих речовин провадили на сиру масу тканин за рівняннями Реббелена. Вміст цукрів (моносахаридів, дисахаридів, а також суму цукрів) визначали об'ємним методом Л.В.Мілованової [9]; кількість крохмалю – методом Х.Н.Починка [10]. Стратифікацію чубуків для визначення калюсоутворення провадили в термостаті при 28^{0}С. Чубуки зберігали в лотках з пропареною тирсою. Облік калюсо- і коренеутворення щеп здійснювали після стратифікації в камері перед висадженням щеп у шкілку.

Результати досліджень обробляли методами варіаційної статистики [11].

Результати досліджень та їх аналіз

Результати проведеної роботи свідчать про те, що препарат гумісол позитивно впливає на якісні показники лози, які характеризують придатність її для щеплення. Одним із показників є вміст у тканинах лози вуглеводного комплексу – основи для біполярної регенерації щепи. Дані табл. 1 свідчать,

що обробки вегетуючих кущів винограду розчинами гумісолу впливають на накопичення в лозі вуглеводів.

Таблиця 1

Вплив гумісолу на фізіолого-біохімічні показники тканин чубуків підщепних сортів винограду

Строк обробки	Концентрація розчину гумісол: вода	Вміст пігментів, мг/г сирої маси				Вуглеводи, % сухої речовини		Обводнення тканин, %
		хлорофіли		каротиноїди	a /b	низькомолекулярні цукри	крохмаль	
		a	b					
Ріпаріа х Рупестріс 101-14								
До цвітіння	1:10	0,098±0,003	0,070±0,002	0,037±0,004	1,40	8,64±0,84	7,08±0,37	46,47±1,84
	1:20	0,093±0,005	0,069±0,065	0,035±0,002	1,33	7,72±0,28	6,95±0,40	44,93±1,88
	1:30	0,090±0,001	0,068±0,004	0,032±0,001	1,31	7,30±0,20	6,41±0,14	44,16±1,27
	Контроль	0,073±0,004	0,066±0,001	0,026±0,006	1,26	6,00±0,15	5,70±0,92	43,21±1,31
До цвіт. + після цвітіння	1:10	0,120±0,002	0,084±0,001	0,047±0,001	1,42	9,84±0,28	7,15±0,48	47,43±1,19
	1:20	0,107±0,003	0,078±0,002	0,039±0,008	1,36	9,00±0,28	7,05±0,97	46,82±1,79
	1:30	0,092±0,003	0,072±0,003	0,028±0,007	1,26	7,44±0,10	6,61±0,54	46,52±1,76
	Контроль	0,073±0,002	0,057±0,005	0,026±0,007	1,22	6,23±0,01	5,77±0,70	43,70±1,70
До цвіт. + після цвіт.+ перед дозріванням	1:10	0,143±0,007	0,094±0,001	0,052±0,001	1,58	10,2±0,28	7,67±0,10	48,34±1,16
	1:20	0,133±0,005	0,087±0,004	0,041±0,007	1,52	9,60±0,92	7,48±0,27	46,37±1,13
	1:30	0,100±0,005	0,070±0,005	0,036±0,005	1,42	8,32±0,90	7,22±0,41	46,65±1,22
	Контроль	0,079±0,001	0,062±0,007	0,026±0,005	1,37	6,30±0,42	5,84±0,13	43,78±1,49
Берландієрі х Ріпаріа СО4								
До цвітіння	1:10	0,086±0,001	0,068±0,006	0,034±0,065	1,29	8,62±1,98	6,30±1,60	46,00±1,67
	1:20	0,085±0,001	0,067±0,002	0,031±0,007	1,26	7,08±1,28	6,21±1,33	45,60±1,52
	1:30	0,070±0,001	0,058±0,004	0,054±0,007	1,20	7,06±1,22	6,17±1,33	45,50±1,36
	Контроль	0,667±0,002	0,056±0,008	0,029±0,001	1,18	6,16±1,20	5,10±1,22	43,31±1,19
До цвіт. + після цвітіння	1:10	0,090±0,001	0,075±0,001	0,039±0,001	1,34	9,25±1,86	6,70±1,27	47,24±1,20
	1:20	0,090±0,001	0,068±0,001	0,038±0,002	1,31	9,02±1,16	6,57±1,54	46,96±1,23
	1:30	0,073±0,003	0,059±0,003	0,031±0,002	1,22	8,20±1,96	6,41±1,41	46,30±1,52
	Контроль	0,067±0,004	0,054±0,002	0,030±0,007	1,19	6,98±1,31	5,09±1,71	43,70±1,29
До цвіт. + після цвіт.+ перед дозріванням	1:10	0,138±0,006	0,089±0,001	0,057±0,008	1,49	9.58±1,64	7,42±1,14	48,00±1,67
	1:20	0,126±0,002	0,089±0,001	0,040±0,006	1,41	9.28±1,60	7,12±1,34	47,64±1,14
	1:30	0,090±0,001	0,710±0,008	0,038±0,004	1,23	8.32±1,72	6,88±1,76	46,60±1,21
	Контроль	0,068±0,001	0,053±0,002	0,029±0,002	1,22	6.20±1,40	5,18±1,80	46,67±1,30

Найбільша кількість цукрів і крохмалю міститься в тканинах лози, заготовленої з кущів, оброблених триразово розчинами гумісолу більш високих концентрацій (1 : 10; 1 : 20). Так, сума моно- і дисахаридів складала відповідно 10,02 і 9,60 % при 6,30 % у контролі, а вміст крохмалю - відповідно 7,67 % і 7,48 % при 5,84 % у контролі. При обприскуванні кущів розчином гумісолу у концентрації 1 : 30 особливої різниці у контрольних і дослідних рослин не спостерігалося.

Відомо, що вміст хлорофілів у підщепних чубуках винограду позитивно впливає на процеси калюсо- і коренеутворення щеп. Хлорофіли в чубуках підщепи приймають участь у транспорті поживних речовин (особливо цукрів) до копуляційних зрізів підщепи та прищепи, а також до центрів росту обох компонентів щепи.

Результати наших досліджень свідчать, що вміст пігментів у тканинах лози, отриманої з кущів обох підщепних сортів, оброблених гумісолом, значно вищий, ніж у контрольних варіантах. Ці зміни знаходяться у прямій залежності від строків обробки і від концентрації розчинів гумісолу. Найбільше пігментів синтезується при обробці рослин розчинами препарату концентрації 1 : 10. Вміст хлорофілу “a” збільшується на 59,6 – 69,1 % відносно контролю, а вміст хлорофілу “b” – на 53,5-76,7 % (табл. 1). При значному збільшенні вмісту хлорофілу “a” дуже необхідним є синтез хлорофілу “b”. Відомо, що специфіка будови молекули хлорофілу “b” сприяє стійкості пігментного апарату в екстремальних умовах. Це важливо для збереження пігментного складу в тканинах чубуків в період їх збереження і на технологічних етапах виробництва щеп. Важливим є і те, що у сорту Б х Р CO_4, який відрізняється більш низькою регенераційною здатністю порівняно з Р х Р 101-14, вміст хлорофілів значно збільшується (майже до рівня їх вмісту в тканинах підщепи Р х Р 101-14). Обробка вегетуючих кущів розчинами гумісолу вплинула і на накопичення каротиноїдів. Найбільшим їх вмістом (як у сорту Р х Р 101-14, так і у Б х Р СО4) відрізняються варіанти з дворазовим і триразовим обприскуванням розчинами препарату більш високих концентрацій (1 : 10; 1 : 20). В середньому кількість каротиноїдів у даних варіантах на 52,10 – 57,25 % перевищувала контроль. Ці показники свідчать про те, що в лозі дослідних варіантів процеси накопичення поживних речовин і дозрівання тканин ідуть більш інтенсивно.

Не менш важливим є позитивний вплив гумісолу на гідратацію лози. Слід зазначити, що ступінь обводнення тканин лози є важливим не тільки для збереження вічок, але й для процесів регенерації щеп. За даними табл. 1, обробка рослин водними розчинами гумісолу в період вегетації збільшує обводнення тканин чубуків на 4-5 % порівняно з контрольними варіантами.

Для зрощування щеп винограду важливе значення має висока калюсоутворююча здатність на копуляційних зрізах підщепи. Досліджені нами групи підщепних чубуків у різних варіантах досліду калюсували по-різному. Найкраще калюсували чубуки в варіантах з триразовим обприскуванням вегетуючих кущів розчинами гумісолу у високих концентраціях (1 : 10

і 1 : 20). Маса калюсу в цих варіантах перевищувала контроль у 2 – 3 рази (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив гумісолу на калюсоутворення підщепних сортів винограду

Строк обробки	Концентрація розчину гумісол:вода	Сира маса калюсу мг/1 чубук	Утворення калюсу, %		
			кругове	3/4	1/2
Ріпаріа х Рупестріс 101-14					
До цвітіння	1:10	0,74±0.04	60	20	20
	1:20	0,55±0.02	50	30	-
	1:30	0,54±0.04	30	30	40
	Контроль	0,50±0.03	30	25	45
До цвітіння + після цвітіння	1:10	1,08±0.08	80	40	-
	1:20	0,77±0.07	60	20	20
	1:30	0,59±0.08	40	40	40
	Контроль	0,60±0.05	30	30	40
До цвітіння + після цвітіння + перед дозріванням	1:10	1,25±0.04	100	-	-
	1:20	1,13±0.02	60	20	20
	1:30	0,97±0.04	40	60	-
	Контроль	0,58±0.01	30	40	30
Берландієрі х Ріпаріа СО4					
До цвітіння	1:10	0,77±0,03	55	45	-
	1:20	0,68±0,02	40	40	20
	1:30	0,36±0,01	20	40	40
	Контроль	0,32±0,01	20	30	50
До цвітіння + після цвітіння	1:10	0,87±0,03	40	20	20
	1:20	0,62±0,02	40	20	40
	1:30	0,45±0,08	20	40	40
	Контроль	0,36±0,02	20	30	50
До цвітіння + після цвітіння + перед дозріванням	1:10	0,99±0,01	75	25	-
	1:20	0,68±0,02	50	30	20
	1:30	0,46±0,07	20	50	30
	Контроль	0,36±0,06	20	30	50

Щепи, виготовлені на дослідних чубуках обох підщеп, вегетували інтенсивніше. Дані розвитку щеп перед висадженням щеп у шкілку показали, що процеси регенерації у щепах повністю відповідають аналогічним показникам у чубуках (табл. 3).

В варіантах з дворазовим і особливо триразовим обприскуванням гумісолом концентрації 1 : 10, щепи після 21-го дня стратифікації відрізнялись добре розвинутими корінцями та довжиною приросту. При зламуванні у щепах уже спостерігалися тяжі зрощення між підщепою та прищепою. Подальші обліки приживлюваності щеп у шкілці (через 30 днів після висадження в шкілку) повністю корелюють з раніше отриманими даними. Найбільшим відсотком приживлюваності (36,0 – 71,4 % у різних варіантах досліду) характеризувалися щепи, вихідний матеріал для яких обробляли препаратом гумісол високих концентрацій.

Таблиця 3

Показники розвитку щеп перед висадженням у шкілку

Строк обробки	Концентрація розчину гумісол: вода	Одеський чорний на Р х Р 101-14		Одеський чорний на Б х Р СО4	
		Довжина приросту, см	Кількість корінців, шт	Довжина приросту, см	Кількість корінців, шт
До цвітіння	1:10	2,90±0,02	3,50±0,06	2,20±0,03	1,50±0,04
	1:20	2,58±0,01	2,90±0,01	2,10±0,01	1,20±0,01
	1:30	2,40±0,09	1,58±0,03	2,05±0,07	0,80±0,08
До цвітіння + після цвітіння	1:10	4,60±0,04	3,80±0,02	4,00±0,02	3,27±0,02
	1:20	3,50±0,09	3,20±0,01	2,35±0,02	2,90±0,01
	1:30	3,45±0,07	3,00±0,06	2,00±0,09	1,90±0,09
До цвіт. + після цвітіння + перед дозріванням	1:10	5,10±0,09	4,10±0,09	4,90±0,07	4,40±0,07
	1:20	3,50±0,04	4,00±0,01	2,55±0,01	3,40±0,05
	1:30	2,90±0,02	3,80±0,02	2,30±0,02	2,30±0,09
	Контроль	2,10±0,01	2,60±0,09	1,95±0,03	1,90±0,01

Таким чином, проведені дослідження свідчать, що триразове обприскування в період вегетації маточників підщепних лоз розчинами препарату гумісол в концентрації 1 : 10 і 1 : 20 (особливо 1 : 10) сприяє активізації процесів синтезу пластичних речовин в тканинах пагонів, поліпшує їх фізіологічний стан, стимулює регенераційні процеси.

Література

1. *Шерер В. А.* Прогнозирование эффективности регенерации тканей компонентов прививки винограда // Физиология и биохимия культ.растений. – 1995. – Т. 27, № 5 – 6. – С. 383 – 389
2. *Шерер В. А., Гадиев Р. Ш.* Применение регуляторов роста в виноградарстве и питомниководстве. – К.: Урожай. 1991. – 112 с.
3. *Чайлахян М. Х., Саркисова М. М.* Регуляторы роста у виноградной лозы и плодовых культур. – Ереван, Изд. АН Арм. ССР, 1980. – 187 с.
4. *Хреновсков Э. И., Страхов В. Г.* Влияние гетероауксина, комплекса микроэлементов, аминокислот и производных пиридина на выход привитых саженцев винограда // Вин-во и виноделие. – К.: Урожай, 1964. – 104 с.
5. *Плакида Е. К., Габович В. И.* Применение гиббереллина в виноградарстве. – К.: Урожай, 1964. – 104 с.
6. *Мишуренко А. Г., Подгорный Н. И.* Методические указания по применению препарата МТ-Г для химической чеканки маточников подвойных лоз винограда. –Рига: Изд-во АН Латв.ССР, 1966. – 4 с.
7. *Сергеев Л. И., Сергеева К. А., Мельников В. К.* Морфофизиологическая периодичность и зимостойкость древесных растений. – Минск. филиал АН СССР, Уфа, 1961. – 221 с.
8. *Годнев Т. Н.* Строение хлорофилла и методы его количественного определения. –Минск, Изд-во АН БССР. 1967. — 162 с.
9. *Милованова Л. В.* Сравнительная оценка биохимических методов определения углеводного комплекса в виноградном растении. – В кн.: Сборник методик по физиолого-биохимическим исследованиям в виноградарстве. – М., 1967. – С. 87 – 111.
10. *Починок Х. Н.* Методы биохимического анализа растений. – К., 1976. – 326 с.
11. *Доспехов Б. А.* Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.

Н. Н. Зеленянская
Институт виноградарства и виноделия им. В. Е. Таирова, лаборатория размножения винограда,
ул. 40-летия Победы, 27, пгт. Таирово, 65496, Украина

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ГУМИСОЛ НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ И РЕГЕНЕРАЦИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ В ТКАНЯХ ЛОЗЫ ПОДВОЙНЫХ СОРТОВ ВИНОГРАДА

Резюме

В период вегетации маточные кусты подвойных сортов винограда, отличающихся разной степенью регенерации тканей, опрыскивали растворами физиологически активного препарата гумисол. Обработку проводили в три срока развития растений одноразово, двухразово и трехразово, растворами трех концентраций. Установлено, что препарат стимулирует процессы синтеза в тканях обработанных растений: в лозе увеличивается накопление углеводов, пигментов, повышается оводненность тканей. Улучшение физиологического состояния лозы подвоев положительно сказывается на процессах регенерации черенков: активнее идет каллюсо- и корнеобразование на копуляционных срезах черенков и прививок. Определены наиболее эффективные сроки обработок и оптимальные концентрации растворов препарата.

Ключевые слова: подвой, углеводы, хлорофилл, каротиноиды, вода, прививки, черенки виноград.

N. N. Zelenianskaia
Tairov Research Institute of Viticulture and Wine – Making
Grapevine propagation laboratory,
40 let Pobeda stv., 22, Tairovo, Odessa, 65496, Ukraine

GUMISOL INFLUENCE ON PHYSIOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND REGENERATION PROCESSES IN GRAPEVINE ROOTSTOCKS TISSUES

Summary

Rootstocks mother plants with different tissue regeneration levels (vines) were treated by solutions of physiological active substance gumisol during the vegetation period. The treatments were done three times during vegetation with 3 different gumisol concentration. Stimulation of synthesis processes in treated plants tissues, increasing of carbohydrates, pigments and water content were determined. The improvements of rootstocks physiological state had positive influence on the rootstock cuttings regeneration processes (active callus and roots formations). The most effective treatment periods and gumisol concentrations were estimated.

Key words: rootstocks, carbohydrates, chlorophyll, carotin, water, grafts, cuttings, grapevine.

УДК 631.81.095.337:631.816.3

І. П. Якуба, асп., **Г. А. Швець**, канд. біол. наук, доц., **О. Б. Паузер**, канд. біол. наук, доц.
Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова,
кафедра ботаніки,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

БІОХІМІЧНИЙ СКЛАД ОВОЧЕВИХ КУЛЬТУР ЗА ПЕРЕДПОСІВНОЇ ОБРОБКИ НАСІННЯ МАРГАНЦЕМ

Вивчено вплив передпосівної обробки сульфатом марганцю насіння перцю, томатів, баклажанів та огірків на біохімічний склад та врожайність рослин в умовах відкритого ґрунту на півдні Одещини. Встановлено підвищення вмісту пігментів і активності хлорофілази, зміцнення зв'язку хлорофілу з білками в листках. Марганець стимулює накопичення в плодах аскорбінової кислоти та цукрів, знижує кислотність, підвищує врожайність. Позитивний ефект передпосівної обробки марганцем проявляється у фазі 3 – 5 листків і діє на протязі онтогенезу.

Ключові слова: марганець, позакоренева обробка, овочеві культури, пігменти

Врожайність овочевих культур та якість овочевої продукції при вирощуванні їх на відкритому ґрунті у посушливих умовах українського Півдня залежить від системного поливу та використання добрив. При інтенсивному підживленні рослин потрібно стежити за їх достатньою забезпеченістю мікроелементами. Мікроелементи є необхідним фактором нормального розвитку і продуктивності рослин, вони разом із вітамінами складають один із показників якості овочів, їх достатня кількість і досяжність у ґрунті для рослин є засобом запобігання накопиченню у рослинах шкідливих важких металів [1, 2].

Одним із таких мікроелементів є марганець. Овочеві культури потребують досить великих кількостей даного елементу живлення [3], і ґрунти Одещини містять значну кількість цього металу [4]. Проте, на карбонатних південних чорноземах нашого регіону підчас інтенсивного зрошення у ґрунті створюються окисно-відновні умови, які призводять до зменшення долі досяжного рухомого марганцю та можуть спричинити його дефіцит [5]. Тому є доцільним вивчення впливу підживлення марганцем у формі передпосівного замочування насіння на біохімічний склад та врожайність овочевих культур, які вирощують в умовах відкритого ґрунту на півдні Одещини.

Матеріали і методи дослідження

Досліди провадили протягом 1999 – 2002 років. Рослини перцю сорту Подарунок Молдови, томатів сорту Болградський, баклажанів сорту Чорний принц та огірків сорту Струмок вирощували в умовах відкритого ґрунту на

 © І. П. Якуба, Г. А. Швець, О. Б. Паузер, 2003

полях Одеської області. Некореневе підживлення марганцем здійснювали шляхом замочування насіння протягом 20 годин у 0,05%-ному розчині сульфату марганцю (варіант Mn). Контроль (К) – насіння, замочене у воді. У рослин у фазах 3-5 справжніх листків, цвітіння та плодоносності досліджували такі параметри пігментної системи, як вміст хлорофілів *a* і *b* та каротиноїдів, активність хлорофілази та міцність зв'язку хлорофілу з білками за класичними методиками [6]. Вміст пігментів визначали в ацетоновій витяжці. Активність хлорофілази вимірювали за кількістю утвореного хлорофіліду. Міцність зв'язку хлорофілу з білками знаходили за екстракції хлорофілу розчином етанолу в петролейному ефірі: неміцні хлорофіл-білкові комплекси – 0,4%-ним розчином, міцні – 0,8%-ним. У дозрілих овочах визначали вміст редукуючих цукрів за Бертраном, аскорбінової кислоти за Прокошевим та титровану кислотність титрометричним методом [7].

Результати досліджень та їх аналіз

Передпосівна обробка насіння марганцем призводила до поліпшення ростових показників рослин. У варіанті з марганцем рослини були на 8 – 25% вищі за контрольні, несли на 10 – 15% більше листків та характеризувалися більш раннім цвітінням і плодоносністю.

Пігментний склад рослин відображає їх загальний фізіологічний стан і є критерієм діагностики і прогнозу за негативних чи позитивних впливів на рослину. За вмістом хлорофілів дослідні рослини перцю, томатів та огірків перевищували контрольні на 18 – 27%, а баклажанів — на 40 – 70% (табл. 1). При цьому зростання кількості пігментів спостерігається починаючи з фази трьох листків протягом всього онтогенезу. Помічено зміну співвідношення хлорофілів *a і b*: у оброблених марганцем рослин воно зменшується за виключенням огірків, у яких воно зберігається на тому ж рівні. Це зростання відносної долі хлорофілу *b* свідчить про зростання кількості зрілих світлозбираючих комплексів [8]. У дослідному варіанті для перцю та томатів і, особливо, для баклажанів характерне підвищення вмісту каротиноїдів на 17 – 40% (табл. 1), яке досягає максимуму у фазі плодоносності і вказує на більший ступінь захищеності пігментної системи цих рослин від надлишку сонячної радіації та фотоокиснення [9].

Термінальну реакцію в біосинтезі хлорофілу та його деструкцію каталізує фермент хлорофілаза. Спостерігали підвищену активність даного ферменту у молодих рослин томатів, баклажанів і огірків та у всіх рослин в період цвітіння після обробки насіння марганцем (табл. 2). На фоні більшого вмісту хлорофілу в рослинах це може свідчити про його інтенсивний біосинтез [10].

Функціональна активність пігментної системи залежить від міцності зв'язку хлорофілу з білками. В листках рослин, які вирощували з обробленого марганцем насіння, ступінь міцності зв'язку хлорофілу з білками зростала. Міцність зв'язку у неміцних комплексах підвищувалась на 10 – 30%, у міцних — на 5 – 15%, а співвідношення міцно/неміцнозв'язаний хлорофіл – у 1,2 – 1,6 разів, особливо в період цвітіння.

Таблиця 1

Вміст пігментів у листках овочевих культур, мг/г

Об'єкт	Фаза розвитку	Варі-ант	Хлорофіл *a*	Хлорофіл *b*	Сума *a*+*b*	Спів-відношення *a*/*b*	Каротиноїди
Перець	3-5 справжніх листків	К	1,490±0,027	0,745±0,011	2,237±0,051	2,0	0,503±0,013
		Mn	1,801±0,011***	0,988±0,023***	2,788±0,041***	1,8	0,592±0,007**
	Цвітіння	К	0,736±0,003	0,295±0,028	1,030±0,012	2,5	0,407±0,015
		Mn	0,891±0,002***	0,424±0,009***	1,315±0,019***	2,1	0,477±0,003*
	Плодоносність	К	0,677±0,009	0,251±0,019	0,928±0,022	2,7	0,375±0,030
		Mn	0,782±0,008***	0,340±0,017*	1,122±0,022**	2,3	0,455±0,005*
Томати	3-5 справжніх листків	К	2,251±0,032	1,501±0,027	3,751±0,052	1,5	0,312±0,017
		Mn	2,747±0,021***	2,113±0,027***	4,871±0,0,072***	1,3	0,380±0,011*
	Цвітіння	К	2,054±0,007	1,210±0,015	3,262±0,043	1,7	0,420±0,008
		Mn	2,315±0,003***	1,543±0,011***	3,852±0,032***	1,5	0,501±0,019*
	Плодоносність	К	1,335±0,025	0,477±0,019	1,812±0,052	2,8	0,383±0,012
		Mn	1,586±0,018***	0,634±0,007**	2,220±0,069**	2,5	0,491±0,007**
Баклажани	3-5 справжніх листків	К	0,571±0,007	0,300±0,004	0,871±0,002	1,9	0,181±0,001
		Mn	1,020±0,002***	0,566±0,004***	1,588±0,008***	1,8	0,241±0,002***
	Цвітіння	К	0,777±0,011	0,342±0,006	1,120±0,007	2,3	0,203±0,007
		Mn	1,131±0,001***	0,565±0,008***	1,692±0,014***	2,0	0,282±0,002***
	Плодоносність	К	0,612±0,003	0,204±0,002	0,820±0,002	3,0	0,181±0,001
		Mn	1,012±0,004***	0,389±0,004***	1,403±0,008***	2,6	0,254±0,002***
Огірки	3-5 справжніх листків	К	0,555±0,020	0,370±0,007	0,927±0,011	1,5	0,090±0,002
		Mn	0,671±0,010**	0,479±0,004***	1,152±0,010***	1,4	0,107±0,005
	Цвітіння	К	1,012±0,008	0,506±0,011	1,518±0,021	2,0	0,215±0,003
		Mn	1,255±0,009***	0,513±0,017	1,858±0,039**	2,1	0,207±0,015
	Плодоносність	К	0,973±0,012	0,487±0,001	1,458±0,019	2,0	0,405±0009
		Mn	1,098±0,007***	0,577±0,003***	1,671±0,012***	1,9	0,449±0,007

Примітка. Тут і далі: * — вірогідно за $P \geq 0,05$; ** — вірогідно за $P \geq 0,01$; *** — вірогідно за $P \geq 0,001$

Таблиця 2

Активність хлорофілази у листках овочевих культур, %

Об'єкт	3-5 справжніх листків		Цвітіння		Плодоносність	
	К	Mn	К	Mn	К	Mn
Перець	1,88±0,12	2,55±0,33	2,43±0,04	3,72±0,22**	2,80±0,34	3,24±0,09
Томати	3,25±0,07	4,02±0,18*	4,03±0,12	4,89±0,13**	3,81±0,11	4,14±0,19
Баклажан	5,91±0,04	8,28±0,11***	7,59±0,11	10,0±0,07**	6,51±0,07	9,53±0,14**
Огірки	4,05±0,17	4,94±0,05**	6,90±0,33	8,42±0,17*	3,90±0,17	4,21±0,22

Примітка. Тут і далі: К — контроль, Mn — насіння оброблене марганцем

Передпосівне замочування насіння у марганці призводило до росту врожайності овочевих культур на 20 – 34%.

Під впливом марганцю поліпшувались біохімічні показники якості овочевої продукції. Підживлені рослини містили вітаміну С більше – на 20 – 28%, цукру – на 20 – 41%, а вільних органічних кислот менше – на 16 – 60% у порівнянні з контролем (табл. 3). Збільшення співвідношення цукри / органічні кислоти свідчить про підвищення поживно-смакової цінності овочів [9].

Таблиця 3

Врожайність і біохімічний склад плодів

Об'єкт	Варіант	Врожайність, штук з рослини	Аскорбінова кислота, мг%	Цукри, %	Кислотність, %
Перець	К	6,3±0,4	7,22±0,07	2,35±0,09	0,27±0,01
	Mn	7,9±0,3*	9,31±0,11***	3,33±0,12**	0,11±0,01***
Томати	К	11,7±0,3	19,16±0,21	3,01±0,01	0,52±0,01
	Mn	13,8±0,2**	23,0±0,21***	3,61±0,01***	0,44±0,01*
Баклажан	К	4,7±0,2	1,09±0,03	2,16±0,03	0,19±0,01
	Mn	6,3±0,2**	1,42±0,01***	2,74±0,02***	0,13±0,01*
Огірки	К	27,7±0,9	6,67±0,08	2,97±0,03	0,05±0,00
	Mn	33,5±1,3*	8,12±0,08***	3,31±0,05**	0,03±0,00***

Таким чином, передпосівна обробка насіння марганцем поліпшує ріст овочевих культур, стан їх пігментної системи, підвищує врожайність, поліпшує біохімічні показники якості овочів. Отримані дані свідчать про те, що стимулююча дія замочування насіння у марганці проявляється вже у фазі трьох – п'яти справжніх листків та діє на протязі всього онтогенезу. З досліджених нами культур найкращий відгук на підживлення мікроелементом спостерігали у баклажанів — як за станом пігментної системи, так і за врожайністю. Якість плодів під впливом марганцю особливо помітно підвищувалась у плодів перцю. Можна вважати, що в умовах півдня Одещини при вирощуванні овочів на відкритому ґрунті доцільно вживати підживлення марганцем шляхом передпосівного замочування насіння.

Література

1. *Гудков І. М.* Роль окремих елементів мінерального живлення у надходженні радіонуклідів в рослини / Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть. – К.: Логос, 2002. – 435 с.
2. *Кабата-Пендиас А., Пендиас Х.* Микроэлементы в почвах и растениях. – М.: Мир, 1989. – 440 с.
3. *Научно*-обоснованная система орошаемого земледелия / В. И. Остапов, Н. И. Василенко, В. М. Круглов. – К.: Урожай, 1987. – 200 с.
4. *Паузер О. Б., Швець Г. А., Якуба І. П.* Вміст і динаміка рухомого марганцю на полях півдня Одещини // Аграрний вісник Причорномор'я. – 2002. – № 4 (15). – С. 37 – 41.
5. *Орошение* на Одесщине: Почвенно-экологические и агротехнические аспекты / Под ред. И. Н. Гоголева. – Одесса, Ред.-изд. отдел обл. упр. печати, 1992. – 436 с.
6. *Сапожников Д. И.* Пигменты пластид зеленых растений и методика их исследования. – М.-Л.: Наука, 1964. – 315 с.
7. *Методы* биохимического исследования растений / Под ред. А. И. Ермакова. — Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
8. *Кочубей С. М.* Организация фотосинтетического аппарата высших растений. – К.: Альтерпрес, 2001. – 204 с.
9. *Randy Moore, W. Dennis Clark, Kingsley K. Stern.* Botany. – Washington: WCB, 1995. – 824 p.

И. П. Якуба, Г. А. Швец, О. Б. Паузер
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра ботаники
Дворянская, 2, Одесса 65026, Украина

БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР ПРИ ПРЕДПОСЕВНОЙ ОБРАБОТКЕ СЕМЯН МАРГАНЦЕМ

Резюме

Изучено влияние предпосевной обработки сульфатом марганца семян перца, томатов, баклажанов и огурцов на биохимический состав и урожайность растений в условиях открытого грунта на юге Одесщины. Установлено повышение содержания пигментов и активности хлорофиллазы, увеличение прочности связи хлорофилла с белками в листьях. Марганец стимулирует накопление в плодах аскорбиновой кислоты и сахаров, снижает кислотность, повышает урожайность. Позитивный эффект предпосевной обработки марганцем проявляется в фазе трех – пяти листьев и действует в течение онтогенеза.

Ключевые слова: марганец, некорневая обработка, овощные культуры, пигменты

I. P. Yakuba, G. A. Shvets, O. B. Pauzer
Odessa National I. I. Mechnikov University, Department of Botany
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

BIOCHEMICAL PARAMETERS OF VEGETABLES AT THE PRE-SOW DAMPING OF SEEDS IN MANGANESE

Summary

The effect of the pre-sow damping of the seeds of pepper, tomatoes, aubergines and cucumbers in the solution of manganese sulfate on the biochemical characteristics and yield was studied in the outdoor conditions of the south of Odeska region. It was established that manganese improved growth parameters and yield, increased the amount of pigments and chlorophyllase activity, strengthened chlorophyll-protein bounds in leaves. Manganese stimulated storing of the ascorbic acid, sugar and lowered the amount of organic acids in vegetables. The positive influence of the pre-sow damping in manganese starts in the phase of 3-5 leaves and lasts during all the ontogenesis of plants.

Key words: manganese, pre-sow damping, vegetables, pigments

ГЕНЕТИКА

УДК 633.15:631.524:575.113:542.1

В. П. Доменюк[1], наук. співр., **Н. І. Сторчеус[2]**, студ. ОНУ, **А. О. Бєлоусов[3]**, д-р біол. наук, зав. лаб., **Ю. М. Сиволап[1]**, д-р біол. наук, директор
[1] Південний біотехнологічний центр у рослинництві УААН та МОН України, Овідіопольська дорога, 3, Одеса, 65036, Україна.
[2] Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова, кафедра генетики та молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна.
[3] Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насінництва та сортовивчення УААН,
Овідіопольська дорога, 3, Одеса, 65036, Україна.

ДНК-МАРКУВАННЯ ОЗНАК ПРОДУКТИВНОСТІ КУКУРУДЗИ МЕТОДОМ SSRP-ПЛР

Для маркування локусів кількісних ознак (QTL), що відповідають за розвиток ознак продуктивності кукурудзи, використано метод SSRP-аналізу. Встановлено специфічність алелів маркерних локусів для певних рівней фенотипового прояву полігенних ознак. Обговорюються критерії інформативності маркерних локусів. Показана можливість добору цінних генотипів, на підставі визначення алелів маркерних локусів, пов'язаних з необхідними для селекції значеннями ознак. Маркуючу здатність перевірено у контрастних умовах середовища 2000 – 2001 років вирощування.
Ключові слова: кукурудза, ПЛР, SSRP-маркери, локуси кількісних ознак.

Необхідність вивчення кількісних ознак пов'язана з декількома причинами: 1) більшість агрономічно цінних ознак — кількісні; 2) вони є біологічними «індикаторами» середовища; 3) вони можуть визначатися великою кількістю генів які, можливо, представляють іншу частину геному, на відміну від локусів, що виявляються методами біохімічної генетики. Генетично обумовлена мінливість кількісних ознак пов'язана з розщепленням поліморфної частини локусів, що контролюють їх розвиток. Методами біохімічної і молекулярної генетики білків чи ДНК досліджується популяційна мінливість на рівні генотипів, що набагато показовіше, ніж дослідження фенотипів [1]. Сучасна популяційна генетика здатна вивчати структуру популяції як стосовно кількісних морфофізіологічних ознак, так і моногенних ознак (ДНК-маркерів) з наступним паралельним аналізом їх розповсюдження у популяції. Вивчення генетичної природи кількісних ознак сьогодні є актуальним [2 – 7] і спрямованим, зокрема, на вивчення взаємодії генотип – середовище [8], картування локусів, що визначають важливі кількісні ознаки [9] і на підвищення ефективності і темпів добору за господарсько-цінними ознаками [10]. Останній напрямок пов'язаний з розвитком нового селекційного підходу MAS (добір, заснований на маркерах) і потребує інформації не про стандартне картування а динаміки характеру зв'язків маркерів з рівнем ознаки у природних популяціях.

© В. П. Доменюк, Н. І. Сторчеус, А. О. Бєлоусов, Ю. М. Сиволап, 2003

Метою даної роботи є вивчення характеру зв'язків між мінливістю ознак продуктивності кукурудзи і генетичними маркерами, як основи для розробки прогнозуючих моделей.

Матеріали та методи

Вихідний матеріал — лінії ГК26, Мо17, гібрид F_1– надано лабораторією генетико-біотехнологічних методів селекції кукурудзи Селекційно-генетичного інституту. Вихідні інбредні лінії суттєво різняться за основними морфо-біологічними ознаками і належать різним гетерозисним групам – Iodent і Lancaster, відповідно. Ізоляцію та самозапилення генотипів популяцій (ГК26 х Мо17) у поколіннях F_2 і F_3 провадили протягом 2000–2001 років на експериментальній базі СГІ "Дачна". Вимірювали 18 найбільш важливих чи інформаційно значимих кількісних ознак. У даній праці наведено аналіз 6-ти ознак, що складають групу продуктивності: «кількість рядів зерен» (КРЗ), «маса 100 зерен» (М100), «глибина зерна» (ГЗ), «діаметр основи качана» (ДОК), «довжина качана» (ДК), «індивідуальна продуктивність» (ІП). Кількісну варіацію було оброблено статистично згідно закону нормального розподілу.

Для маркування кількісних ознак використано різновид полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) — SSRP. ДНК виділяли з листя кукурудзи із застосуванням цетавлону. Умови ампліфікації ДНК оптимізовані для приладу MJ Researsh (PTC-200). Реакційна суміш об'ємом 20 μl містила 50 мМ KCl, 20 мМ трис-HCl (pH 8,4 при 25°C), 0,01% Tween–20, 2 мМ $MgCl_2$, 0,2 μМ праймера, 200 μМ кожного dNTP, 20 нг геномної ДНК, 1 од. Taq – полімерази. Для ампліфікації SSRP-локусів використали такі температури: початкова денатурація — 93°C 1 хв., далі — 20 с.; гібридизація — 57°C (phi 064 і phi 061) — 60°C (phi 083) — 65°C (nc 030) — 20 с. — 31 цикл; синтез — 70°C 20 с.; остання елонгація — 7 хв.

Попередню оцінку ампліконів провадили у 4% агарозному гелі на TBE буфері (50 мМ трис-H_3BO_3, 2 мМ ЕДТА, pH 8.0) — 1 годину при 80 V, забарвлювали бромистим етидієм (1 мг/мл). Фотографували гелі в ультрафіолетовому промінні з червоним світлофільтром на плівку «Мікрат-300». Для більш чіткої виразності провадили електрофорез у поліакриламідному гелі на обладнанні Hoefer SE600. Склад гелю: 10% акриламід, 1xTBE з використанням денатуруючих агентів — 7 М сечовина, 0,01% формамід (у буфері для зразків). Перед нанесенням у лунки зразки кип'ятили 2 хв. Товщина гелю — 0,75 мм. Умови електрофорезу: 500 V протягом 1 години при 65°C. Забарвлювали гелі азотнокислим сріблом. Документували отримані електрофореграми відеосистемою VDS (Pharmacia Biotech). Для підвищення точності молекулярну вагу поліморфних фрагментів ДНК обраховували за допомогою компьютерної програми "Image Master 1D Elite" згідно стандарту pUC/Mix (Fermentas). Фрагменти маркеру в п.н. (за зменшенням): 1116, 883, 692, 501, 489, 404, 331, 242, 190, 147, 111-110, 67. Для статистичної оброб-

ки фенотипових даних використано пакет комп'ютерних програм "Gene — Stat" і "Statistica" за алгоритмами Лакіна [11], для генотипових даних — алгоритми Мазера [12] і Танксли [13].

Результати та обговорення

Молекулярне маркування кількісних ознак у популяції F_2: генотипування 180 рекомбінантів популяції (ГК26 х Мо17) F_2 за допомогою SSRP-аналізу дозволило простежити розщеплення за поліморфними локусами, що були детектовані у батьківських ліній. Загалом було використано 12 пар спрямованих праймерів, з яких виявлено 4 потенційних маркери. З використанням заходів описаних у Tanksley [13], встановлено маркерні амплікони, зчеплені з локусами, що визначають відмінності у прояві кількісних ознак.

Таблиця 1

Інформативність алельного складу маркерних SSRP-локусів у рекомбінантів популяції (ГК26 х Мо17)F_2 з різними значеннями ознак продуктивності у порівнянні з батьківськими формами

Генотипи і значення ознак батьків:		Маркер	Середнє значення ознаки у генотипів:			Кількість генотипів:			Достовірність різниці середніх при P<:	Фази нерівноваги за зчепленням
AA	BB		AA	AB	BB	AA	AB	BB		
Маса 100 зерен, г										
ГК26	Мо17	Nc 030	24,3	27,1		42	86		0,01	притяг.
30	37		24,3		27,75	42		52	0,005	
ГК26	Мо17	phi 064	27,75	25,9		54	86		0,1	відшт.
30	37		27,75		25,6	54		39	0,1	
Мо17	ГК26	phi 061		26,1	26,9		101	38	0,5	відшт.
37	30		25,8		26,9	40		58	0,5	
Мо17	ГК26	phi 083	24,55	27,9		44	85		0,005	відшт.
37	30			27,9	25,7		85	51	0,05	
			24,55		25,7	44		51	0,4	

Продовження таблиці 1

Генотипи і значення ознак батьків:		Маркер	Середнє значення ознаки у генотипів:			Кількість генотипів:			Достовірність різниці середніх при P<:	Фази нерівноваги за зчепленням
AA	BB		AA	AB	BB	AA	AB	BB		
Діаметр основи качана, см										
ГК26	Mo17	phi 064	3,6	3,5		54	85		0,1	притяг.
3,4	3,15			3,5	3,45		85	38	0,5	
			3,6		3,45	54		38	0,05	
Mo17	ГК26	phi 061	3,4	3,5		40	99		0,2	притяг.
315	3,4			3,5	3,6		99	38	0,2	
			3,4		3,6	40		38	0,01	
Mo17	ГК26	phi 083	3,4	3,5		43	84		0,2	притяг.
3,15	3,4			3,5	3,6		84	51	0,1	
			3,4		3,6	43		51	0,005	
Довжина качана, см										
ГК26	Mo17	nc 030	15,5	16		42	86		0,1	притяг.
12	14		15,5		16	42		52	0,2	
Mo17	ГК26	phi 061	16	15,8		40	101		0,5	0
14	12			15,8	16		101	38	0,5	
Mo17	ГК26	phi 083		15,8	16		85	51	0,5	0
Індивідуальна продуктивність, г										
ГК26	Mo17	nc 030	77,35	85,9		42	86		0,025	притяг.
44	54			85,9	89,4		86	51	0,4	
			77,35		89,4	42		51	0,005	
ГК26	Mo17	phi 064	91,65	83,3		54	86		0,025	відшт.
44	54		91,65		82,35	54		38	0,025	
Mo17	ГК26	phi 061	80,25	83,9		40	101		0,4	відшт.
54	44			83,9	92,2		101	37	0,05	
			80,25		92,2	40		37	0,01	
Mo17	ГК26	phi 083	78,9	83,7		44	84		0,2	відшт.
54	44			83,7	94,2		84	51	0,005	
			78,9		94,2	44		51	0,001	

Закінчення таблиці 1

Генотипи і значення ознак батьків:		Маркер	Середнє значення ознаки у генотипів:			Кількість генотипів:			Достовірність різниці середніх при P<:	Фази нерівноваги за зчепленням
AA	BB		AA	AB	BB	AA	AB	BB		
Глибина зерна, см										
ГК26	Mo17	nc 030		1,5	1,6		86	52	0,01	відшт.
2	1,5		1,5		1,6	42		52	0,025	
ГК26	Mo17	phi 064	1,55	1,6		54	86		0,2	притяг.
2	1,5			1,6	1,5		86	39	0,01	
			1,55		1,5	54		39	0,4	
Mo17	ГК26	phi 061	1,6	1,5		40	101		0,025	притяг.
1,5	2			1,5	1,55		101	38	0,2	
			1,6		1,55	40		38	0,4	
Mo17	ГК26	phi 083	1,5	1,6		44	85		0,01	0
1,5	2			1,6	1,5		85	51	0,005	

Для кожного маркерного алеля (AA, Aa чи aa) визначали «селективну вагу» (за визначенням Животовського [1]) як середнє значення ознаки усіх особин популяції, що мають даний алель. Метод SSRP-ПЛР дає можливість детектувати обидва алелі в генотипі на відміну від попередніх повідомлень про RAPD- та ISSR-маркування QTL, де можливо було детектувати лише два генотипи **A-** і **a** [14-16]. Ознаку «кількість рядів зерен» не марковано. Аналіз інформативності маркерних локусів проводили з урахуванням таких параметрів: 1) достовірність різниці середніх величин ознаки для маркерних алелів; 2) максимальне значення ознаки у генотипів з певним алелем; 3) розщеплення і взаємодія алелів; 4) кількість маркованих ознак (на один маркер).

Зв'язки між маркерами і QTL вкрай чутливі до змін умов оточуючого середовища. Підставою надійного маркування є близьке розташування маркера з локусом (ами), що відповідає за розвиток ознаки. Перевірка можливого зчеплення маркер-QTL була проведена шляхом аналізу успадковування ознаки від батьків до рекомбінантів F_2. Приклад для ознаки «маса 100 зерен»: «селективна вага» алеля AA по маркерному локусу nc030 материнської форми ГК26 співпадає за рівнем з «селективною вагою» такого ж алеля (AA) у F_2. У даному випадку значення ознаки більш низьке порівняно із значеннями Mo17 і алелів AB, BB у F_2. Така тотожність виступає певним доказом того, що ДНК-маркер і маркований QTL, який впливає на ознаку, знаходяться у фазі «притягання». Фізичний смисл цього полягає у тому, що маркер і QTL розташовані досить близько у групі зчеплення і не

відокремлюються кросинговером. Загалом детектовано 8 маркерних локусів, що знаходяться у фазі «притягання» до певних QTL, 7 – у фазі «відштовхування» и 3 – ймовірно, у стані рівноваги. Розщеплення маркерних локусів відповідало 1:2:1. У більшості випадків співвідношення фенотипових класів свідчило про проміжне успадковування.

Представлений модельний дослід демонструє можливості використання ДНК-маркерів для добору генотипів за алелями маркерних локусів, що пов'язані з високими (такими, що перевищують середнє у популяції) значеннями ознаки. Необхідно зазначити, що високі значення ознаки не завжди є цінними для селекції. Важливими можуть бути різні значення ознаки.

Відомо, що адаптивні зміни в експресії генотипу перш за все позначаються на прояві кількісних ознак. Це може призводити до "перевизначення" генетичних формул, тобто зміни набору генів, що відповідали за розвиток певної ознаки у попередніх умовах. Для більш коректного визначення маркуючої здатності отриманих поліморфних локусів їх успадковування з'ясовували також у наступному поколінні – F_3 (табл. 2).

Таблиця 2

Порівняння інформативності SSRP-маркерів QTL в F_2 та F_3

Роки	Маркер	Достовірність різниці середніх при P<:	Маркерний алель та значення ознаки	Фази нерівноваги за зчепленням
Маса 100 зерен, г				
2000	Nc030	0,005	BB (27,75)	відштовхування
2001		0,2	AA (26,5)	
2000	Phi083	0,005	AB (27,9)	притягнення
2001		0,05	AB (26,0)	
Діаметр основи качана, см				
2000	Phi064	0,05	AB (3,6)	відштовхування
2001		0,005	BB (3)	
Індивідуальна продуктивність, г				
2000	Nc030	0,005	BB (89,4)	притягнення
2001		0,005	BB (45,7)	
2000	Phi061	0,01	BB (92,2)	притягнення
2001		0,05	BB (44,5)	
2000	Phi083	0,001	BB (94,2)	відштовхування
2001		0,01	AA (45,5)	
Глибина зерна, см				
2000	Phi083	0,01	AB (1,6)	притягнення
2001		0,05	AB (1,4)	

Молекулярне маркування кількісних ознак у популяції F_3: генотипування 190 рекомбінантів популяції (ГК26 х Мо17)F_3 з допомогою SSRP-аналізу дозволило простежити розщеплення за поліморфними локусами, які були детектовані у батьківських ліній та F_2.

Шляхом порівняльного аналізу даних 2000 та 2001 років встановлено поліморфні локуси, які не втратили зв'язків з локусами певної ознаки і алелі яких не були роз'єднані кросинговером з алелями QTL, тобто маркували однаковий рівень розвитку ознаки у контрастних умовах середовища двох років. Маркери, за якими не відтворено зв'язків у наступному поколінні, можна вважати специфічними для певних умов розвитку.

Інформативними залишилися чотири маркери: Nc030 і Phi061 для ознаки "індивідуальна продуктивність", Phi083 для ознак "маса 100 зерен" та "глибина зерен". Але генетична цінність цих маркерів різна. Лише у двох випадках маркери є гомозиготними, тобто гамето–стабільними – Nc030 та Phi061. Інші, такі як АВ, не можуть бути однозначними показниками для прогнозування, оскільки серед нащадків можливі усі варіанти генотипів, включаючи і небажані. Серед гомозиготних найбільш надійним є маркер Nc030, оскільки алель ВВ на протязі трьох поколінь (починаючи з батьків) залишався асоційованим з високим рівнем ознаки "індивідуальна продуктивність" (див. табл. 1 і 2). Це свідчить, що відстань між маркером та QTL, який впливає на розвиток ознаки, мала на стільки, щоб майже виключає ймовірність кросинговеру.

Отже, використання молекулярних SSRP-маркерів дозволяє вивчати закономірності успадковування кількісних ознак. Кодомінантна природа отриманих продуктів ПЛР дає можливість визначити найбільш інформативний маркерний алель. Дослідження природньої популяції, де різні генотипи мають однакову можливість розвитку, дозволяє розглянути основу генотипової мінливості і детектувати найбільш стабільні ("каркасні") QTL, які зберігають свій вплив у будь-яких умовах існування. Отримання маркерів саме до таких локусів відкриває перспективи прогнозування рівня розвитку кількісних ознак у рослин кукурудзи.

Література

1. *Животовский Л. А.* Интеграция полигенных систем в популяциях. Москва.: Наука. — 1984. — С. 27 – 46.
2. *Austin D. F., Lee M.* Comparisonof QTL mapping for plant height in $F_{2:3}$ and $F_{6:7}$ generation // Maize genetics cooperation, New letters. — 1995. — № 69. — P. 7 – 8.
3. *Witsenboer H.,Ziegle J. et al.* Molecular markers in the manipulation of disease resistance // Plant Genome III. International Conference on the Status of Pllant Genome Research. — 1995. — P. 261.
4. *Jannink J.-L., Jansen R.* Mapping epistatic quantitative trait loci with one – dimensional genome searches // Genetics. — 2001. — V. 157. — P. 445 – 454.
5. *Jensen J.* Estimation of recombination parametrs between a quantitative trait locus (QTL) and two marker gene loci. // Theor. Appl. Genet. — 1989. — V. 78. — P. 613 – 618.
6. *Sene M. et al.* QTLs for grain dry milling properties, composition and vitreousness in maize recombinant inbred lines // Theor Appl Genet. — 2001. — V. 102. — P. 591 – 599.

7. *Duble C. M. et al.* Molecular mapping and gene action of Scm1 and Scm 2, two major QTL contribution to SCMV resistence in maize // Plant Breeding. — 2000. — V. 119. — P. 299 – 303.
8. *Crossa J. et al.* Interpreting genotype x environment interaction in tropical maize using linked molecular markers and environmental covariables // Theor Appl Genet. — 1999. — V. 99. — P. 611 – 625.
9. *Сиволап Ю. М., Календарь Р. Н., Нецветаев В. П., Чапля А. Е.* Маркерный анализ некоторых QTL ячменя с помощью RAPD и изоферментов // Цитология и генетика. — 1997. — Т. 31. № 4. — С. 39 – 45.
10. *Ribaut J. M. et al.* Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 2. Yield components and marker-assisted selection strategies // Theor. Appl. Genet. — 1997. — V. 94. — P. 887 – 896.
11. *Лакин Г. Ф.* Биометрия. Москва: Высшая школа. — 1990. — С. 23 – 92.
12. *Mather K., Jinks J.* Biometrical genetics. Cambridge: Univ. Pres. — 1982. — 396 p.
13. *Tanksley S. D.* Mapping polygenes // Annu. Rev. Genet. — 1993. — V. 27. — P. 205 – 233.
14. *Доменюк В., Вербицкая Т., Белоусов А., Сиволап Ю.* Маркерный анализ количественных признаков кукурузы при помощи ISSR-ПЦР // Генетика. — 2002. — Т. 38. № 9. — С. 1 – 9.
15. *Доменюк В., Вербицька Т., Сиволап Ю.* Оптимізація методики RAPD – аналізу для детекції поліморфізму послідовностей ДНК у ліній кукурудзи // Вісник Одеського національного університету. — 2001. — Т. 6. Вип. 1. — С. 51 – 59.
16. *Доменюк В., Бєлоусов А., Сиволап Ю.* ДНК-маркирование количественных признаков кукурузы // Цитология и генетика. — 2002. — № 6. — С. 12 – 19.

В. П. Доменюк[1], Н. И. Сторчеус[2], А. О. Белоусов[3], Ю. М. Сиволап[1]

[1]Южный биотехнологический центр в растениеводстве УААН и МОН Украины,
Овидиопольская дорога, 3, Одесса, 65036, Украина.

[2]Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина.

[3]Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноводства и сортоизучения УААН,
Овидиопольская дорога, 3, Одесса, 65036, Украина.

ДНК-МАРКИРОВАНИЕ ПРИЗНАКОВ ПРОДУКТИВНОСТИ КУКУРУЗЫ МЕТОДОМ SSRP-ПЦР

Резюме

Для маркирования локусов количественных признаков (QTL), отвечающих за развитие признаков продуктивности кукурузы, использован метод SSRP-анализа. Установлена специфичность аллелей маркерных локусов для определённых уровней фенотипического проявления полигенных признаков. Обсуждаются критерии информативности маркерных локусов. Показана возможность отбора ценных генотипов на основе определения аллелей маркерных локусов, связанных с необходимыми для селекции значениями признаков. Маркирующую способность проверяли в контрастных условиях среды 2000-2001 годов выращивания.

Ключевые слова: кукуруза, ПЦР, SSRP-маркеры, локусы количественных признаков.

V. P. Domenyuk[1], N.I. Storcheus[2], A. A. Belousov[3], Yu.M. Sivolap[1],
[1]South Plant Biotechnology Center UAAS,
Ovidiopolskaya Dor. 3, Odessa, 65036 Ukraine

[2]Plant Breeding and Genetics Inctitute UAAS.
[3]Odessa National I. I. Mechnikov University, Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya st., 2, Odessa, 65026, Ukraine.

DNA-MARKING OF MAIZE YIELD TRAITS BY SSRP-PCR

Summary

SSRP-analysis method was used for marking quantitative trait loci (QTL), that determined the development of maize yield traits. Specific marker alleles were established to be related with certain levels of polygenic trait phenotype evincement. Criterions of marker loci informative ability are discussed. Determining of marker alleles linked with necessary for breeding trait value allowed the possibility of selection of valuable genotypes. Marker ability was established on contrast conditions growing along 2000-2001 years.

Key words: maize, PCR, SSRP-markers, quantitative trait loci.

УДК 634.8:576.858.8

Н. А. Мулюкіна, канд. біол. наук, зав. лаб. вірусології та мікробіології,
Інститут виноградарства і виноробства ім. В. Є. Таїрова,
смт. Таїрово, Одеса, 65496, Україна

МОЛЕКУЛЯРНА ГІБРИДИЗАЦІЯ ТА ПОЛІМЕРАЗНА ЛАНЦЮГОВА РЕАКЦІЯ У ДЕТЕКЦІЇ ВІРУСНИХ ХВОРОБ ВИНОГРАДУ

З метою детекції та ідентифікації вірусних захворювань винограду, зокрема коротковузля та скручування листя, застосовано метод молекулярної гібридизації із зондом на основі двоспіральної РНК (дсРНК) і полімеразну ланцюгову реакцію. Показано, що чутливість цих методів дозволяє виявляти вірусну інфекцію у періоди, коли тестування неможливо здійснювати за допомогою імуноферментного аналізу. Методи були використані для тестування вихідного матеріалу клонів сортів прищеп і підщеп винограду.
Ключові слова: двоспіральна РНК, полімеразна ланцюгова реакція, мозаїка жилок, скручування листя, коротковузля, клони прищеп і підщеп, виноград

Вимоги Європейської Спілки щодо використання високочутливих референтних методів для тестування садивного матеріалу винограду клонового походження спонукує до розробки і використання у схемах сертифікації садивного матеріалу методик, що базуються на молекулярній гібридизації та полімеразній ланцюговій реакції.

Застосування в роботі стандартного методу індексації щепленням передбачає отримання результатів лише через 1 – 3 роки. Серологічні методи (імуноферментний аналіз) дозволяють прискорити процес тестування, при цьому результати можуть бути отримані за 2 – 3 дні. Хоч цей метод гарантує специфічність детекції, у випадках, коли треба підвищити вірогідність виявлення вірусу, перевага надається молекулярно-біологічним методам діагностики. Серед них найчастіше застосовують молекулярну гібридизацію та полімеразну ланцюгову реакцію, яких використовують для визначення санітарного статусу рослин після термотерапії садивного матеріалу, який ввозиться з інших країн, а також для тестування вихідного клонового матеріалу [1]. Вважається, що ці методи найближчим часом займуть належне місце у схемах санітарної селекції та сертифікації садивного матеріалу винограду поряд з індексацією щепленням та імуноферментним аналізом.

Однак ці методи вимагають модифікацій в залежності від вірусу, що має бути виявлений, виду (сорту) ураженого винограду (особливо при виділенні дсРНК) та від мети детекції (виявлення одного чи кількох вірусів водночас, необхідність лише детекції або також ідентифікації вірусу). Крім того, для

 © Н. А. Мулюкіна, 2003

використання цих методів у санітарній селекції та сертифікації необхідно провести порівняння отриманих результатів з даними тестування за допомогою стандартних методів (щеплення на сорти-індикатори та імуноферментний аналіз).

Метою даного дослідження була розробка методів детекції та ідентифікації найбільш шкідливих вірусів винограду, зокрема вірусів коротковузля і скручування листя, і застосування цих методів за тестування вихідного клонового матеріалу.

Матеріали та методи

За аналізу як зразки використовували молоде розвинене листя середніх ярусів куща або черешки листя.

Для виділення двоспіральної РНК (дсРНК) використовували листя та молоді пагони сортів винограду, уражених мозаїкою жилок винограду, РНК виділяли за методом Грама і Майор [2]. Очищення дсРНК проводили хроматографією на целюлозі CF-11.

Горизонтальний електрофорез здійснювали в 0,5 – 0,7 % гелі агарози при 100 – 250 V протягом 0,5 – 2 годин.

Радіоактивне мічення дсРНК провадили методом хімічної модифікації з використанням ізотопу ^{125}I у середовищі, яке містило хлорид талію як м'який окислювач [3]. Отриманий препарат використовували як гібридизаційний зонд.

Гібридизацію імобілізованих на нейлоновому фільтрі екстрактів з тестованих кущів клонів проводили за методом Маніатіс та ін. [4].

Полімеразну ланцюгову реакцію здійснювали за Nolasco et al. [5] з модифікаціями. Використовували праймери для виявлення третього серотипу вірусу скручування листя та вірусу коротковузля винограду, послідовність нуклеотидів яких надана Achecho et al. [6] та Nolasco et al. [5].

Результати тестування кущів клонів за допомогою молекулярно-біологічних методів порівнювали з результатами стандартного тестування методом імуноферментного аналізу.

Результати досліджень

Виявлення вірусних хвороб винограду методом молекулярної гібридизації

Двоспіральна РНК, що зустрічається у тканинах рослин, найчастіше є реплікативною формою РНК-вірусів, тому її наявність може бути свідченням ураження рослини вірусною інфекцією. Проте пряме використання методу виділення та аналізу дсРНК є складним для використання у масовому тестуванні через труднощі виділення вірусної нуклеїнової кислоти з тканин винограду, що пов'язано з низьким pH клітинного соку та високою активністю поліфенолоксидази у вегетативних органах. Тому нами спільно зі співробітниками лабораторії молекулярної біології Селекційно-генетичного інституту (м. Одеса) було розроблено метод гібридизації з радіоактив-

но міченим зондом — дсРНК, асоційованою з мозаїкою жилок винограду. Зонд був використаний для виявлення гібридизаційних взаємовідносин між дсРНК та РНК інших вірусів винограду, а також з метою тестування клонів підщеп і прищеп на наявність латентного ураження з вірусною інфекцією. Наші дослідження показали, що цей зонд виявляє не тільки ураження мозаїкою жилок винограду, а також кущі, хворі на коротковузля, скручування листя та мармуровість винограду. Можливо, що цей факт пов'язаний з наявністю комплементарних послідовностей в геномах різних вірусів винограду. Однак проведена крос-гібридизація отриманого зонду з вірусами інших культур (зокрема, Х-вірусом картоплі) дала негативні результати. Таким чином, специфічність отриманого нами зонду має певні обмеження, що дає можливість використовувати цей зонд як універсальний для виявлення кількох вірусів винограду.

Для перевірки відповідності результатів молекулярно-біологічної детекції даним, що були отримані стандартним методом імуноферментного аналізу, ми провели паралельне виявлення вірусної інфекції (коротковузля, скручування листя, мармуровість та мозаїка жилок винограду) обома методами (табл. 1).

Таблиця 1

Детекція вірусних захворювань методами молекулярної гібридизації та імуноферментного аналізу протягом сезону вегетації

Захворювання	Кількість уражених кущів	Строки проведення аналізу та кількість виявлених кущів					
		Травень – червень		Липень – серпень		Вересень	
		ІФА	Гібридизація	ІФА	Гібридизація	ІФА	Гібридизація
Мозаїка жилок	4	—	4	—	3	—	4
Коротковузля	3	3	3	1	3	3	3
Скручування листя	4	1	3	3	4	4	4
Мармуровість	3	3	3	0	1	3	3

Примітка: ІФА – імуноферментний аналіз.

Як видно з таблиці, застосування універсального дсРНК зонду дозволило значно поліпшити визначення вірусу коротковузля в період липень – серпень, коли внаслідок високих температур та погіршення реплікації вірусу серологічна ідентифікація його утруднена. Вірус скручування листя винограду важко виявити серологічно в період травень – серпень, коли концентрація вірусу в тканинах винограду ще незначна, а його симптоми ще не

проявляються, тому серологічна діагностика його в цей період здебільшого не проводиться. Застосування молекулярної гібридизації допомогає виявити вірус скручування практично на протязі всього періоду вегетації. Вірус мозаїки жилок серологічно не виявляється внаслідок відсутності антисироваток до цього збудника, тому застосування дот-гібридизації надає єдину можливість для його детекції. На жаль, вірус мармуровості в період підвищення температури влітку виявити складно навіть за допомогою молекулярної гібридизації.

Таким чином, метод молекулярної гібридизації є придатним для проведення експрес-детекції вірусів, що набуває особливого значення при визначенні санітарного статусу кущів клонів $П_0$, які проходять попереднє тестування, та садивного матеріалу винограду, що ввозиться з-за кордону і санітарний стан якого не відомий. Цей метод можна застосовувати у випадках, коли необхідно отримати відповідь на запитання, чи уражений даний матеріал вірусною інфекцією. Такий результат не завжди влаштовує при тестуванні клонів прищепних сортів, тому що присутність деяких вірусних захворювань, що не спричиняють значного впливу на агробіологічні показники сорту (клону) допускається в ряді виноградарських країн Європи (мозаїка жилок, мармуровість винограду). Проте, при використанні матеріалу в якості підщеп бажано мати гарантію, що цей матеріал взагалі не містить вірусів, бо ураження вірусами негативно впливає на показники приживлюваності.

Ідентифікація вірусів винограду методом полімеразної ланцюгової реакції

Ідентифікувати збудника вірусної хвороби, водночас забезпечуючи високу чутливість детекції (на 1 – 2 порядки вищу, ніж за молекулярної гібридизації і імуноферментного аналізу) можна за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. Ампліфікація геному методом ПЛР є дуже чутливим методом для виявлення вірусів рослин. Однак, незважаючи на те, що перші повідомлення щодо можливості застосування ПЛР у цій сфері з'явились приблизно п'ять років тому, цей метод і досі не застосовується у широкомасштабному тестуванні.

На цей час метод полімеразної ланцюгової реакції розроблено для кількох вірусів винограду, проте робота продовжується у напрямку створення і підбору праймерів, які визначають потрібний рівень специфічності реакції. Навіть у випадку, коли застосовуються праймери відомої нуклеотидної послідовності, в кожному випадку потрібна оптимізація методу, яка передбачає підбір оптимальних концентрацій зразка, оптимального типу зразка (певні органи чи тканини), концентрації деяких реагентів (зокрема, Taq-полімерази).

Виявлення вірусу коротковузля винограду ми проводили на основі використання праймерів відомої нуклеотидної послідовності:

5′ – CCGTGAGAGGATTGGCTGGTA – 3′

5′ — ATGGGAGGGCAAGTGAGAAAT – 3′

Оптимальна концентрація Taq-полімерази складала 2 одиниці. При вивченні впливу розведення екстракту на отриманий результат (виявлення

ПЛР-продукту розміром близько 700 пар основ) було показано, що оптимальне розведення зразка складає 1 : 40.

Після підбору оптимальних параметрів ПЛР провадили виявлення вірусу коротковузля винограду в тканинах підщепних і прищепних сортів винограду. Детекцію вірусу коротковузля здійснювали у тканинах уражених цими захворюваннями кущів сортів Каберне Совіньйон і Ріпаріа х Рупестріс 101 – 14. Вірус виявляли як в оптимальний для детекції період (червень), так і в серпні — у період, коли вияв вірусу коротковузля в тканинах винограду методом ІФА не є надійним. Таким чином, метод ПЛР більш ефективний, ніж метод імуноферментного аналізу, у випадку тестування на вірус коротковузля винограду.

Для виявлення вірусу скручування листя винограду (третій серотип) ми використовували праймери з такою нуклеотидною послідовністю:

C 547 5′ – ATTAACTTGACGGATGGCACGC — 3′

H 229 5′ — ATAAGCATTCGGGATGGACC — 3′

Оптимальна концентрація Taq-полімерази складала 2 одиниці, оптимальне розведення зразка – 1 : 40. Третій серотип вірусу скручування листя винограду ми виявляли як у період оптимальної детекції (серпень), так і в період, коли концентрація вірусу часто не є достатньою для серологічної детекції (початок червня). Вірус виявлявся в обидва періоди як у тканинах Vitis vinifera, так і в тканинах американських підщеп. Для аналізу використовували черешки та жилки листків. Нами було показано, що метод ПЛР забезпечував високий вихід ампліфікованого продукту (приблизно 340 пар основ) в усіх варіантах детекції. Дуже важливо, що метод дозволяє виявляти вірус скручування в усі періоди в тканинах підщеп, бо детекцію клостеровірусів методом імуноферментного аналізу на підщепах часто важко здійснити через низькі значення оптичної щільності досліджуваних проб. Результати виявлення вірусів коротковузля та скручування листя за допомогою ПЛР наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Виявлення вірусів коротковузля і скручування листя винограду методами імуноферментного аналізу та ПЛР

Захворювання	Кількість уражених кущів	Строки проведення аналізу та кількість виявлених уражених кущів			
		Червень		Серпень	
		ІФА	ПЛР	ІФА	ПЛР
Коротковузля	Прищепи — 5	5	5	2	5
	Підщепи — 3	3	3	1	3
Скручування листя (третій серотип)	Прищепи — 5	3	5	5	5
	Підщепи — 3	0	3	2	3

Аналізуючи отримані результати, слід зазначити, що нами розроблено та застосовано в практиці отримання вихідного клонового матеріалу виногра-

ду з використанням методу експрес-детекції латентної вірусної інфекції за допомогою радіоактивно міченого зонда – дсРНК, асоційованої з мозаїкою жилок винограду.

Зонд дозволяє виявляти нуклеїнову кислоту патогену на рівні нанограмів у пробі і рекомендується для попереднього скринінгу садивного матеріалу на наявність або відсутність вірусної інфекції.

Вперше в системі санітарної селекції та лабораторної діагностики винограду на Україні для детекції вірусу коротковузля і третього серотипу вірусу скручування листя винограду був застосований метод полімеразної ланцюгової реакції. Висока чутливість методу дозволяє використовувати його для ідентифікації вірусів в період, коли результати імуноферментного аналізу не є надійними.

Література

1. *Walter B.* Sanitary selection of the grapevine. Protocol for the detection of viruses and virus-like diseases // Les Collogues de l'INRA/ — 1997. — Vol. 86. — P. 43 – 47.
2. *Грама Д. П., Майор И. Ю.* Препаративный метод выделения репликативной формы Х-вируса картофеля // Микробиол. журнал. — 1989. — Т. 51, № 3. — С. 77 – 81.
3. *Commerford D.* Quick diagnostic tests of plant viruses using radioactive DNA probes // Bull. Soc. Bot. Fr. Actual. — 1971. — Vol. 12, № 2. — P. 145 – 148.
4. *Маниатис Д., Фрич Э., Сэмбрук Д.* Молекулярное клонирование. — М.: Мир, 1984. — 527 с.
5. *Nolasco G. and De Sequeira O. A.* Immunocapture polymerase chain reaction (IC/PCR) in the diagnosis of grapevine fanleaf virus (GFLV) in grapevine field samples // 11th Meet ICVG, Lisbon, Portugal. — 1997. — P. 158 – 159.
6. *Acheche H., Fattouch S., M'hirsi S., Marzouki N. and Marrakchi M.* Use of optimized PCR method for the detection of GLRaV 3: a closterovirus associated with grapevine leafroll in Tunisian grapevine plants // Plant Molecular Biology Reporter. — 1999. — Vol. 17. — P. 31 – 42.

Н. А. Мулюкина
Институт виноградарства и виноделия имени В.Е. Таирова,
пгт. Таирово, Одесса, 65496, Украина

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ И ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ В ДЕТЕКЦИИ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ВИНОГРАДА

Резюме

С целью детекции и идентификации вирусных заболеваний винограда, в частности короткоузлия и скручивания листьев, применены метод молекулярной гибридизации с зондом на основе двуспиральной РНК и полимеразная цепная реакция. Показано, что чувствительность этих методов позволяет выявлять вирусную инфекцию в периоды, когда тестирование невозможно осуществить при помощи иммуноферментного анализа. Методы были использованы для тестирования исходного материала клонов сортов привоев и подвоев винограда.

Ключевые слова: двуспиральная РНК, полимеразная цепная реакция, прижилковая мозаика, скручивание листьев, клоны привоев и подвоев, виноград

N. A. Muljukina
Tairov Research Institute of Viticulture and Wine-Making,
Tairovo, Odessa, 65496, Ukraine

MOLECULAR HYBRIDIZATION AND POLYMERASE CHAIN REACTION FOR GRAPEVINE VIRUS DISEASES DETECTION

Summary

Methods of molecular hybridization and polymerase chain reaction were used for detection and identification of grapevine virus diseases. The possibility of virus detection by these methods during the periods when identification by ELISA-test isn't realiable was demonstrated. Methods were used for grapevine scions and rootstocks clones testing.

Key words: double-stranded RNA, polymerase chain reaction, vein mosaic, leafroll, fanleaf, scions and rootstocks clones, grapevine

УДК 577.222:595

В. М. Тоцький, д-р біол. наук, проф., зав. каф., **Н. Г. Гандірук**, канд. біол. наук, **І. В. Ланцман**, студ.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра генетики та молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ І ЧАСТОТА КРОСИНГОВЕРУ НА ДІЛЯНЦІ B – CN ХРОМОСОМИ 2 У DROSOPHILA MELANOGASTER ЗА ВМІСТУ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ У ПОЖИВНОМУ СЕРЕДОВИЩІ

Вивчена залежність життєздатності та частоти кросинговеру на ділянці b – cn хромосоми 2 дрозофіли від вмісту солей кобальту, свинцю та кадмію у поживному середовищі. За годування мух на протязі одного покоління кормом з хлористим кобальтом у концентрації 0.2 мМ виникає статистично достовірне підвищення частоти кросинговеру. Така ж доза свинцю у поживному середовищі призводить не тільки до підвищення мейотичної рекомбінації, але й до зменшення плодючості й тривалості життя мух. Токсичність кадмію виявилася значно вищою, ніж свинцю.
Ключові слова: дрозофіла, кросинговер, тривалість життя, плодючість, кобальт, свинець, кадмій

Комбінаційна мінливість, головним джерелом якої є генетична рекомбінація, відіграє важливу роль у формуванні нових варіантів генотипів [1]. Частота кросинговеру в певних локусах хромосом у значній мірі визначає ефективність еволюційного процесу в природі [2, 3] шляхом створення нових форм організмів з адаптаційними [4, 5] та коодаптованими [6] комплексами генів, що забезпечують пристосування генотипів до певних умов довкілля [7].

Відомо, що частота кросинговеру залежить від дії на організм різноманітних чинників зовнішнього середовища [1, 2]. В зв'язку з цим відомі спроби використання останніх для регуляції частоти мейотичної рекомбінації і швидкості формування у особин популяції комплексів генів, що забезпечують адаптацію організмів до мінливих умов середовища [4, 5, 8]. Серед забруднюючих довкілля чинників досить поширені важкі метали – складові компоненти вихлопних газів автомобільного транспорту [9, 10]. Механізми ушкоджуючої дії важких металів на організм значною мірою визначаються змінами на генетичному рівні, тобто здатністю важких металів змінювати структуру і функцію ДНК. Добре вивчена мутагенна і навіть канцерогенна дія важких металів на організм [11], але поки що дуже мало відомо стосовно ролі важких металів у комбінаційній мінливості організмів, зокрема залежності частоти кросинговеру від цього чинника. Поодинокі

© В. М. Тоцький, Н. Г. Гандірук, І. В. Ланцман, 2003

роботи [12] свідчать, що Cu, наприклад, у певних концентраціях призводить до збільшення частоти кросинговеру у дрозофіли.

Метою даного дослідження було вивчення тривалості життя, плодючості та частоти мейотичної рекомбінації на ділянці b – cn у дрозофіли в залежності від вмісту солей окремих важких металів у поживному середовищі.

Матеріали і методи дослідження

Для вивчення залежності показників життєздатності та частоти кросинговеру на ділянці b – cn хромосоми 2 D. melanogaster від вмісту у поживному середовищі солей важких металів використовували мух дикого типу Canton S і подвійних мутантів по локусах cinnabar та vestigial (cn, vg). З нащадків, отриманих в результаті схрещування мутантних самок з самцями Canton S, відбирали в день вильоту віргінних дигетерозиготних самок і поділяли їх на десять рівнозначних груп (контрольну та дев'ять дослідних). Кожну самку контрольної групи утримували окремо у пробірках на чистому поживному середовищі, а самок дослідних груп – на середовищах з токсикантами. В якості токсикантів використовували хлористий кобальт, хлористий кадмій та азотнокислий свинець в кінцевих концентраціях у поживному середовищі 0,002, 0,02 та 0,2 мМ кожного. Таким чином, у період мейотичного поділу ооцитів і можливого кросинговеру піддослідні самки, на відміну від контрольних, знаходилися на поживних середовищах з досліджуваними токсикантами.

На третій день до контрольних і дослідних самок підсажували самців-аналізаторів, гомозиготних по рецесивних генах (cn vg). Утворені сім'ї утримувались на тих же поживних середовищах з токсикантами протягом трьох діб. Серед отриманих нащадків підраховували число некросоверних і кросоверних особин від кожної пари батьків, що відкладали яйця протягом трьох діб. Частоту кросинговеру розраховували як відношення числа кросоверних особин до загальної кількості нащадків і виражали в процентах. Визначення частоти кросинговеру здіснювали у 20-ти кратній повторності. Оптимальний для врахування частоти кросинговеру вік гібридних самок (3 – 6 днів) визначали експериментально в попередній серії дослідів.

Плодючість мух визначали як кількість лялечкових пупаріїв у потомстві однієї самки, що відкладала яйця протягом трьох діб. Для визначення тривалості життя контрольну та дев'ять дослідних груп гібридних самок по 25 особин у кожній групі утримували в пробірках на чистому (контроль) чи з солями металів ($CoCl_2$, $CdCl_2$, $PbNO_3$ у концентраціях 0,002, 0,02, 0,2 мМ) поживних середовищах. Підрахунок живих мух проводили щоденно. Результати виражали в днях, на які випадала загибель 50% мух (Lt_{50}). Статистичну обробку даних здійснювали за [13].

Результати дослідження та їх аналіз

Виявлено, що досліджувані показники тривалості життя, плодючості та частоти кросинговеру у гібридних мух істотно змінюються за наявності

у кормі важких металів (табл. 1). Ступінь спостережених змін істотно залежить від типу важкого металу і від його концентрації.

Таблиця 1

Життєздатність мух за вмісту важких металів у поживному середовищі

Показники життєздатності	Контроль	Важкі метали			
		Концентрація, мМ	Co^{2+}	Pb^{2+}	Cd^{2+}
Тривалість життя (Lt_{50}, дні)	16,3±1,1	0,002	16,2±2,2	15,7±1,7	17,1 ±2,1
		0,02	15,4±1,8	13,8±1,4	13,2±1,4
		0,2	14,7±1,9	12,8±1,1*	9,2±0,8*
Плодючість, число нащадків	99,5±1,01	0,002	89,7±9,2	54,1±5,0*	52,5±6,2*
		0,02	101,0±9,7	54,3±5,3*	48,8±3,2*
		0,2	81,8±7,0	51,6±4,8*	35,8±3,3*

З трьох досліджуваних солей хлористий кобальт найменш суттєво впливає як на показники життєздатності дрозофіли, так і на частоту мейотичної рекомбінації у цього об'єкта. Хронічне надходження кобальту в організм дорослих мух за досліджуваних концентрацій його у кормі не призводить до достовірних змін показників життєздатності дрозофіли. Разом с тим двовалентні іони кобальту в концентрації 0,2 мМ підвищують частоту кросинговеру у досліджуваних мух. Теоретична частота кросинговеру між генами b і cn, згідно з генетичною картою, складає 9,5 сМ. У наших дослідах частота кросинговеру на вказаній ділянці хромосоми у контрольних мух 3 – 6-денного віку складала 8,69 сМ (рис. 1). За споживання мухами хлористого кобальту (0,2 мМ у середовищі) частота кросинговеру у них зростала до 10,89 сМ, що на 25,5 % перевищує контроль.

Більш токсичними для дрозофіли виявилися солі кадмію та свинцю. Їх токсичність проявляється в усіх досліджуваних концентраціях. Плодючість мух за наявності у поживному середовищі свинцю у будь-якій досліджуваній концентрації знижується у 1,9 рази, а тривалість життя особин зменшується за найвищої концентрації свинцю (0,2 мМ) на 21,5% порівняно з контролем. Свинець, подібно кобальту, в концентрації 0,2 мМ індукує підвищення частоти мейотичної рекомбінації генів у гібридних самок. Індукція частоти кросинговеру свинцем більш виражена і складає 30,7% (проти 25% за наявності кобальту у поживному середовищі).

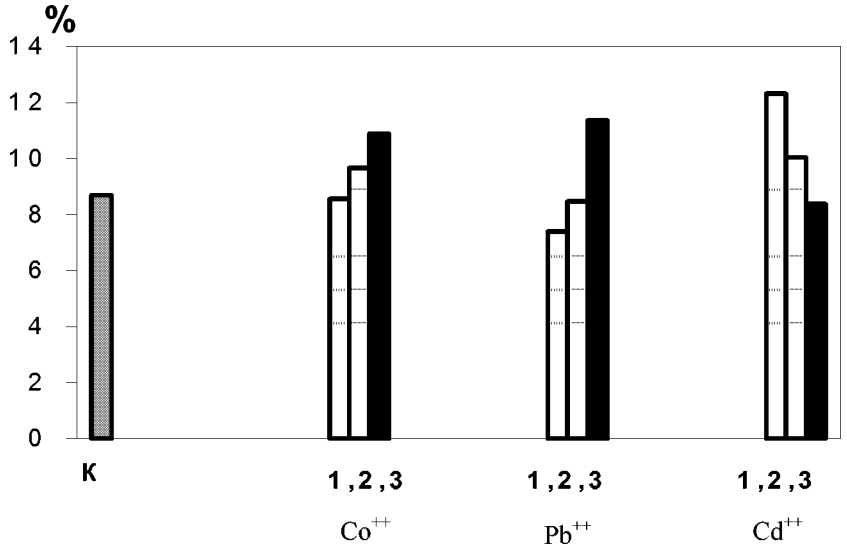


Рис. 1. Залежність частоти кросинговеру на ділянці b – cn хромосоми 2 дрозофіли від вмісту важких металів у поживному середовищі: 1 – 0, 002 мМ; 2 – 0,02 мМ; 3 – 0,2 мМ.

Примітка: По вісі ординат – частота кросинговеру, %; К — контроль

Найбільш токсичним для дрозофіли виявився кадмій. За зростання кадмію у поживному середовищі плодючість мух прогресивно зменшується (табл. 1). Наявність у середовищі 0,002 мМ хлористого кадмію призводить до зменшення плодючості мух у 1,9 рази, а концентрація цієї сполуки у 0,2 мМ зменшує плодючість у 2,8 рази порівняно з контролем. Щодо тривалості життя мух, то цей показник достовірно падає в (1,8 рази) лише за максимальної концентрації (0,2 мМ) кадмію у поживному середовищі. Стимулюючий вплив на частоту кросинговеру притаманний кадмію лише за низьких його концентрацій у поживному середовищі (рис. 1). Зростання частоти кросинговеру на 41% спостерігали у мух за наявності у середовищі 0,002 мМ $CdCl_2$, в той час як більш значна концентрація (0,02 мМ) цієї сполуки стимулювала кросинговер лише на 16%. Висока концентрація кадмію (0,2 мМ) істотно зменшувала плодючість і тривалість життя досліджуваних мух, але не призводила до збільшення у них частоти мейотичної рекомбінації.

Отримані результати приводять до висновку, що розповсюдження солей важких металів у довкіллі може призводити до істотних змін частоти мейотичної рекомбінації у живих організмів, а, отже, і до змін ефективності адаптаційних та еволюційних процесів. Про це свідчить той факт, що незначні концентрації важких металів у середовищі, як правило, стимулюють мейотичну рекомбінацію і сприяють комбінаційній мінливості організмів. Разом з тим висока частота рекомбінацій у дрозофіли за наявності важ-

ких металів у середовищі свідчить на користь можливого мутагенного впливу зазначених токсикантів на організм. Відомо [14], що цитогенетична активність кадмію та свинцю полягає в їх здатності призводити до хроматидних розривів. Саме ці ушкодження ДНК можуть сприяти як мейотичній рекомбінації, так і хромосомним мутаціям.

Таким чином, результати наших досліджень свідчать про те, що частоту кросинговеру у дрозофіли можна використовувати як тест-систему за генетичного моніторингу середовища, забрудненого важкими металами.

Що стосується механізмів дії важких металів на ДНК, то можна припустити, що іони важких металів конкурують з іонами Ca^{2+} та Mg^{2+} за місця зв'язування з хромосомами. Оскільки останні забезпечують структурну цілісність хромосом, то витіснення цих іонів з хромосом іонами токсикантів може призводити до порушення безперервності структури хромосом, що й збільшує частоту хроматидних розривів.

Література

1. *Алшибли Нассер Мухамед, Хаустова Н.Д., Тоцький В.Н.* Частота рекомбинаций на участке b–cn-vg хромосомы 2 Drosophila melanogaster в зависимости от генотипа и возраста мух // Вісник Одеського національного університету. – 2001. — Т.6. Вип. 1. Біологія. – С. 45 – 50.
2. *Лобашев М.Е.* Генетика. – Л.: ЛГУ, 1967. – 718 с.
3. *Тоцький В.М.* Генетика – Одеса: Астропринт, 2002. – 710 с.
4. *Тоцкий В.Н., Гандирук Н.Г., Есеркепова Е.В., Путятина В.И.* Комлексы генов адаптации и адаптивный гетерозис// Экологическая генетика растений, животных, человека. – Кишинев: Штиинца, 1991.– С. 194 – 195.
5. *Тоцкий В.Н., Хаустова Н.Д., Гандирук Н.Г.* Генный баланс и адаптация природных и искусственно созданых генотипов Drosophila melanogaster // Труды по фундаментальной и прикладной генетике (к 100-летниму юбилею генетики). – Харьков, Штрих, 2001. – С. 140 – 155.
6. *Тоцкий В.Н., Хаустова Н.Д., Стрельцова Н.А.* Полиморфизм алкогольдегидрогеназы и генетическая адаптация D. melanogaster к действию селективных факторов // Цитология и генетика. – 1995. – Т. 29, № 6. – С. 54 – 59.
7. *Жученко А.А., Король А.Б.* Рекомбинация в эволюции и селекции. – М.: Мир, 1989. – 105 с.
8. *Гандірук Н.Г., Полодієнко О.Б.* Роль ген-ензимної системи супероксиддисмутази в адаптації дрозофіли до гіпертермії // Вісник ОДУ. – 2000. – Т. 5. Вип. 1. Біологія. – С. 86 – 91.
9. *Антипенко Е.М., Олексієнко П.Л., Когут Н.М.* Результати генетичного моніторингу, проведеного у трьох містах України у зв'язку з забрудненням навколишнього середовища // Здоров'я та відтворення народу України – Київ, 1991. – С. 130 – 134.
10. *Барилян И.Р., Фролов В.М.* Влияние экологически неблагоприятных факторов антропогенного генеза на иммунологическую реактивность, цитогенетические показатели и уровень здоровья населения Украины // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології – Київ; Луганськ, 1998. – Вип. 3. – С. 15-18.
11. *Бигалиев А.Б.* Генетический эффект солей тяжелых металлов как загрязнителей окружающей среды // Успехи современной генетики. – 1982. – Вип.10.– С.104 – 114.
12. *Крюков В.И.* Влияние Cu на частоту соматического кроссинговера у Dr. melanogaster.// Весник новых мед. технологий. — Т.5 , № 4. — 1998. – С. 30 – 31.
13. *Зайцев Г.Н.* Методика биометрических расчетов. – М.: Наука, 1973. – 256 с.
14. *Сахарова М.Н., Рапопорт И.А.* Молекулярные механизмы генетических процессов. – М.: Наука, 1972. – С. 118 – 122.

В. Н. Тоцкий, Н. Г. Гандирук, И. В. Ланцман
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И ЧАСТОТА РЕКОМБИНАЦИИ НА УЧАСТКЕ B – CN ХРОМОСОМЫ 2 У *DROSOPHILA MELANOGASTER* ПРИ СОДЕРЖАНИИ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ

Резюме

Изучена зависимость показателей жизнеспособности и частоты кроссинговера на участке b – cn хромосомы 2 у дрозофилы от содержания солей кобальта, кадмия и свинца в питательной среде.

Питание мух на протяжении одного поколения кормом, содержащим хлористый кадмий или хлористый свинец в концентрации 0,02 и 0,002 мМ, приводит к статистически достоверному повышению частоты кроссинговера на участке b – cn хромосомы 2. Наличие кадмия и свинца в питательной среде приводит не только к повышению мейотической рекомбинации, но и к снижению плодовитости и продолжительности жизни исследуемых мух. Из испытанных солей $CoCl_2$ оказывал наименьшее влияние на показатели жизнеспособности и частоту кроссинговера у дрозофилы.

Ключевые слова: дрозофила, кроссинговер, продолжительность жизни, плодовитость, кобальт, свинец, кадмий

V. N. Totskiy, N. G. Gandiruk, I. V. Lantsman
Odessa National I. I. Mechnikov University,
Departmemnt of Genetic and Miolecular Biology,
Dvoryanskaya str., 2, Odessa, 65026, Ukrraine

VIABILITY AND FREQUENCY OF RECOMBINATIONS ON THE SECTION B – CN CHROMOSOME 2 OF DROSOPHILA MELANOGASTER WITH CONTENT OF SALTS OF HEAVY METALS IN THE NUTRIENT MEDIUM

Summary

It has been studied the dependence of indexes of viability and frequency of recombinations on the section b – cn chromosome 2 of drosophila with content of salts of cobalt, cadmium and lead nufrient medium.

Nutrition of flies for a period of one generation with fodder, keeping cadmium chloride or lead cloride in concentration of 0,02 and 0,002 mM leads to statistical reliable raising of the frequency of crossingover on the section b – cn chromosome 2. Availability of cadmium and lead in the nutrient medium leads not only to the lowering of fertibility but to the duration of life of the researched flies. Among the investigated salts $CoCI_2$ showed the least influence on the index of viability and frequency of crossingover of drosophila.

Key words: drosophila, crossingover, duration of life, fertibility, cobalt, lead, cadmium

УДК 582.542.11:575.222.7

Т. Г. Трочинська, асп., **Т. П. Бланковська**, д-р біол. наук, проф.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра генетики і молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

СХРЕЩУВАНІСТЬ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ З ЖИТОМ ТА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ ГІБРИДНИХ ЗЕРНІВОК

Наведено результати досліджень по схрещуванню різних сортів м'якої озимої пшениці з житом. Виявлені морфологічні особливості та з'ясована схожість гібридних зернівок.
Ключові слова: пшенично-житні гібриди, схрещування, зав'язування, схожість

Важливим методом одержання вихідного матеріалу для селекції є віддалена гібридизація, що дозволяє створювати нові форми, яким властиві біологічно корисні або господарчо цінні якості. Наслідки та процеси, що спостерігаються за схрещування пшениці з житом, з'ясовані недостатньо з огляду на важливість проблеми для теорії та практики сільськогосподарського виробництва [1 - 4]. Зокрема, недостатньо з'ясоване зав'язування гібридних зернівок залежно від сортових особливостей материнської форми, майже не досліджувались їх морфологічні показники.

Метою нашого дослідження був аналіз ефективності схрещування м'якої пшениці з житом, вивчення морфологічних особливостей гібридних зернівок та їх життєздатності.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на дослідній ділянці біологічного факультету Одеського національного університету у 2001 – 2002 роках.

Озиму м'яку пшеницю сортів Миронівська 808, Безоста 1 і її мутантну форму (далі – Безоста 1 М, мутація впливає на розвиток ендосперму) запилювали щойно зібраним пилком жита сорта Харківське 60 за загальноприйнятою методикою [5]. В кожному варіанті схрещувань було запилено від 1150 до 1550 квіток. За контроль приймали запилення кастрованих квіток пшениці пилком, що був зібраний з квіток того ж сорту (запилено 300 квіток). При проведенні запилення звертали увагу на віковий стан приймочок (запилювали на третю — четверту добу після кастрації) [6].

Відсоток зав'язування визначали шляхом прямого підраховування кількості зернівок, що сформувалися. Масу кожної гібридної зернівки, а для контролю – зернівки батьківських форм, визначали на торзійних терезах. Одержані результати обробляли статистично [7]. У наступному вегетаційному сезоні зернівки висівали для визначення життєздатності і отри-

© Т. Г. Трочинська, Т. П. Бланковська, 2003

мання F_1. Відсоток схожості визначали шляхом підраховування сходів і розрахунку співвідношення кількості висіяних зерен і паростків.

Результати та їх обговорення

Результати схрещування м'якої озимої пшениці з житом свідчать про його відносно невисоку ефективність (табл. 1), у той час як за внутрішньосортового запилення материнських форм розвивалося понад 90% зав'язей.

Порівняння результатів схрещуваннь сортів Безоста 1 та Миронівська 808 з житом з даними інших дослідників [6, 8] свідчить про те, що вони розрізняються несуттєво. Водночас можна констатувати залежність успішності схрещування від особливостей материнської форми.

Зважаючи на низьку схрещуваність сортів Безоста 1 та Миронівська 808 з житом та на генний контроль цієї ознаки [9], можна припустити, що вищезазначені сорти мають домінантні алелі Kr_1 та Kr_2, відповідальні за схрещуваність пшениці з житом. Що стосується ендоспермального мутанта сорту Безоста 1, то не виключено, що він має або рецесивні алелі обох генів, які дозволяють схрещування, або лише домінантний алель Kr_2, який менш ефективний, ніж Kr_1.

Таблиця 1

Відсоток зав'язування зернівок за схрещування м'якої пшениці з житом та за внутрішньосортового запилення материнських форм

Варіант схрещування, сорт	Зав'язування зернівок, %
Безоста 1 × Харьківське 60	1,85 ± 0, 45
Безоста 1 М × Харьківське 60	40,49 ± 4,76
Миронівська 808 × × Харьківське 60	4,35 ± 0,71
Безоста 1 × Безоста 1	93,53 ± 1,20
Безоста 1 М × Безоста 1 М	91,59 ± 0,83
Миронівська 808 × × Миронівська 808	94,98 ± 3,64

Отримані внаслідок схрещування гібридні зернівки в варіанті Безоста 1 х Харьківське 60 були середнього розміру, помірно зморшкуваті; в варіанті Миронівська 808 х Харьківське 60 – крупніші, менш зморшкуваті, а в варіанті Безоста 1 М х Харьківське 60 - малі, сильно зморшкуваті, що свідчить про недостатньо розвинений ендосперм з причини природи мутації у цієї форми.

Високий відсоток зав'язування зернівок у м'якої пшениці за примусового внутрішньосортового перехресного запилення в наших дослідах найвірогідніше пояснюється високою якістю пилку. Як відомо, у самозапильних рослин, до яких належить і пшениця, пилок зберігає життєздатність короткий час. Можливо, відносно низький відсоток озерненості колосів у дослідах попередників [4, 6] пов'язаний з тим, що між збором пилку та запиленням кастрованих квіток проходив певний проміжок часу, тоді як ми працювали з щойно зібраним пилком.

Отримання нежиттєздатних зернівок пов'язано з порушенням узгодженості процесів індивідуального розвитку, що найбільш часто проявляється формуванням нежиттєздатних зародків та ендосперму.

За О. В. Івановською [3], ранні етапи розвитку гібридного зародка відбуваються під контролем материнського організму, а пізніше, коли його розвиток підпадає під контроль і батьківського генотипу, виникають дисгармонії, які викликають структурні порушення.

За важливий показник життєздатності зерен приймали їх масу. Відомо, що чим крупніша зернівка, тим міцніша й продуктивніша рослина, що виросте з неї. Дані про середні маси зернівок та їх схожість наведені у табл. 2, із якої видно, що існування залежності між масою зернівок та їх схожістю властива також і гібридним зернівкам. Гібридні зернівки варіанта Безоста 1 М х Харьківське 60, що мали найменшу масу, одночасно були й найменш життєздатними (схожість – 34,6%), а зернівки варіантів Безоста 1 х Харьківське 60 та Миронівська 808 х Харьківське 60 – відповідно 66,6% та 58,5%, хоч зав'язування зернівок у варіанті Безоста 1 М х Харьківське 60 було набагато ефективнішим, ніж у інших.

Таблиця 2

Маса та схожість гібридних зернівок F_0 та батьківських форм

Варіант схрещування, сорти	Маса зернівки, мг	Схожість, %
Безоста 1 × Харьківське 60	23,2 ± 2,33	66,6
Безоста 1 М × Харьківське 60	19,13 ± 0,36	34, 6
Миронівська 808 × Харьківське 60	28,67 ± 1,40	58,5
Безоста 1 × Безоста 1	52,26 ± 0,73	96,7
Безоста 1 М × Безоста 1 М	44,95 ± 0,81	89,2
Миронівська 808 × Миронівська 808	45,68 ± 1,05	92,0
Харьківське 60 × Харьківське 60	35, 05 ± 0,57	94,4

Можна припустити, що погана схожість гібридних зернівок у наших дослідах пов'язана саме з недостатньо розвиненим ендоспермом, чому свідком є зморшкуватість зернівок та найменший відсоток проростання зернівок у варіанті схрещування ендоспермального мутанта Безоста 1 з житом.

Аналізуючи схожість гібридних зернівок, треба ще раз підкреслити вірність ствердження М. І. Вавілова [2] про те, що саме якість, а не кількість гібридних зернівок є кращою характеристикою близькості схрещування.

Література

1. *Батыгина Т. Б.* Эмбриология пшеницы. – Л.: Колос, 1974. – 206 с.
2. *Банникова В. П.* Цитоэмбриология межвидовой несовместимости у растений. – Киев: Наукова думка, 1975. – 284 с.
3. *Ивановская Е. В.* Привлечение отдаленной гибридизации к изучению вопроса взаимодействия и дифференциации тканей. – В кн.: Отдаленная гибридизация растений. - М.: Колос, 1970. – 317 с.
4. *Челак В. Р.* Опыление и семяобразование у видов рода Triticum L. // Тез. докл. IX Всесоюзного совещания по эмбриологии растений. – Кишинев: Штиинца, 1986. – С. 150 – 151.
5. *Абрамова З. В., Карлинский О. А.* Руководство к практическим занятиям по генетике. – Л.: Колос, 1968. – 192 с.
6. *Кульбий А. И, Шестопалова Р. Е.* Завязываемость зерновок в зависимости от возраста половых элементов при отдаленной гибридизации // Научно-технический бюллетень ВСГИ. – Одесса: ВСГИ, 1981. – Вып. 3 (41). – С. 29 – 33.
7. *Рокицкий П. Ф.* Биологическая статистика. – Минск: Вышейшая школа. – 1973. – 319 с.
8. *Ходорцова Л. Ф., Матвиенко С. Н., Беленкевич Н. А.* Использование метода эмбриокультуры в процессе создания первичных тритикале // Тез. докл. IV Всесоюзной научной конференции. – Кишинев: Штиинца, 1991. – С. 440.
9. *Кравченко В. И.* Геноисточники высокой скрещиваемости пшеницы с рожью // Тез. докл. IV Всесоюзной научной конференции. – Кишинев: Штиинца, 1991. – С. 278-279.

Т. Г. Трочинская, Т. Ф. Бланковская
Одесский национальний университет им. И. И. Мечникова, кафедра генетики и молекулярной биологии
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

СКРЕЩИВАЕМОСТЬ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С РОЖЬЮ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ГИБРИДНЫХ ЗЕРНОВОК

Резюме

Приведены результаты скрещивания разных сортов озимой мягкой пшеницы с рожью. Определены морфологические особенности и выяснена всхожесть гибридных зерновок.

Ключевые слова: пшенично-ржаные гибриды, скрещиваемость, завязываемость, всхожесть

T. G. Trochinska, T. P. Blankovska
Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Genetics and Molecular Biology
Dvoryanskaya St. 2, Odessa, 65026, Ukraine

CROSSING OF SOFT WHEAT WITH RYE AND VIABILITY OF HYBRID GRAINS

Summary

The results of different winter soft wheat sorts' crossing with rye have been discovered. The features and germination of hibrid seeds were determined.

Key words: wheat-rye hybrids, crossing, fecundation, germination.

УДК 577.222:595.773.4

Н. Д. Хаустова, канд. биол. наук, доц., **Алшибли Нассер Мухамед,** асп., **В. Н. Тоцкий,** д-р биол. наук, профессор, зав. каф., **Е. В. Блажнова,** студ.
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ЧАСТОТА РЕКОМБИНАЦИЙ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ГЕННОГО БАЛАНСА И ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ ДРОЗОФИЛЫ

Изучали частоту рекомбинаций в хромосоме 2 и приспособленность (устойчивость к голоданию) при перестройках генотипа мутантов *b-cn-vg Drosophila melanogaster*. Установили, что насыщение генотипа тройных мутантов генами мух дикого типа *C-S*, также как и замещение хромосомы 1 на соответствующую хромосому последних, привело к увеличению частоты кроссинговера на участке *b-cn*. Перестройки генотипа сопровождались повышением выживаемости дрозофилы в условиях голодания.
Ключевые слова: кроссинговер, генный баланс, приспособленность, дрозофила

В соответствии с концепцией генного баланса [1] развитие организма идет на базе целостной генетической программы, определяемой всей совокупностью генов, присущих данной особи. Нарушение генного баланса может оказаться губительным для организма. В то же время изменение генного баланса обязательно сопутствует генотипической адаптации, так как все эволюционные изменения в популяциях происходят за счет скоординированного отбора многих генов, аллели которых находятся в определенном соотношении, то есть сбалансированы [2, 3].

Исходя из понятия о генном балансе как системе гармонично взаимодействующих генов, можно предполагать, что изменение генных взаимодействий при перестройках генотипа путем направленных скрещиваний должно отразиться на реализации целостной генетической программы и проявиться в изменении жизненно важных функций организма. Мы полагаем, что судить о состоянии генного баланса, отражающего приспособленность организмов, можно по уровню рекомбинационной активности в соответствующих участках хромосом.

Целью данной работы явилось изучение рекомбинационной активности на участке *b-cn-vg* и приспособленности *Drosophila melanogaster* при направленных перестройках генотипа.

© Н. Д. Хаустова, Алшибли Нассер Мухамед, В. Н. Тоцкий, Е. В. Блажнова, 2003

Материалы и методы исследований

Исследования проводили на изосамочьих линиях *Drosophila melanogaster*, гомозиготных по хромосоме 2, где локализованы маркерные мутации *b, cn, vg*. В опытах использовали тройных (*b cn vg*) мутантов, мух дикого типа *Canton-S (C-S)*, а также искусственно синтезированные формы *b cn vg (C-S)* и *b cn vg (1 C-S)*.

Насыщающие скрещивания проводили по следующей схеме: самку дикого типа скрещивали с самцом мутантной линии. В первом поколении скрещивали между собой сибсов, в во втором – отбирали самцов, маркированных по трем генам (*b, cn, vg*), которых вновь скрещивали с самкой дикого типа. Возвратные скрещивания проводили в 15-ти поколениях. Таким образом была получена экспериментальная популяция мух, маркированная по мутантным локусам *b, cn, vg*, но с генотипом мух дикого типа – *b cn vg (C-S)*.

Замещение хромосомы 1 у мух линии *b cn vg* осуществляли по следующей схеме [4]:

1. Получение маркерной формы *Cy/Pm*; *D/Sb*, несущей хромосому 1 от линии *C-S*:

a. $\frac{X^{C-S}}{X^{C-S}}\ \frac{II^{C-S}}{II^{C-S}}\ \frac{III^{C-S}}{III^{C-S}} \times \frac{X}{Y}\ \frac{II^{Cy}}{II^{Pm}}\ \frac{III^{D}}{III^{Sb}} \rightarrow \frac{X^{C-S}}{Y}\ \frac{II^{Cy}}{II^{C-S}}\ \frac{III^{D}}{III^{C-S}};\ \frac{X^{C-S}}{Y}\ \frac{II^{C-S}}{II^{Pm}}\ \frac{III^{C-S}}{III^{Sb}}$

b. $\frac{X^{C-S}}{X^{C-S}}\ \frac{II^{C-S}}{II^{C-S}}\ \frac{III^{C-S}}{III^{C-S}} \times \frac{X^{C-S}}{Y}\ \frac{II^{Cy}}{II^{C-S}}\ \frac{III^{D}}{III^{C-S}} \rightarrow \frac{X^{C-S}}{X^{C-S}}\ \frac{II^{Cy}}{II^{C-S}}\ \frac{III^{D}}{III^{C-S}}$

c. $\frac{X^{C-S}}{X^{C-S}}\ \frac{II^{Cy}}{II^{C-S}}\ \frac{III^{D}}{III^{C-S}} \times \frac{X^{C-S}}{Y}\ \frac{II^{C-S}}{II^{Pm}}\ \frac{III^{C-S}}{III^{Sb}} \rightarrow \frac{X^{C-S}}{Y}\ \frac{II^{Cy}}{II^{Pm}}\ \frac{III^{D}}{III^{Sb}};\ \frac{X^{C-S}}{X^{C-S}}\ \frac{II^{Cy}}{II^{Pm}}\ \frac{III^{D}}{III^{Sb}}$

2. Замещение хромосомы 1 у мух линии *b cn vg* на аналогичную хромосому линии *C-S*:

a. $\frac{X^{b\ cn\ vg}}{X^{b\ cn\ vg}}\ \frac{II^{b\ cn\ vg}}{II^{b\ cn\ vg}}\ \frac{III^{b\ cn\ vg}}{III^{b\ cn\ vg}} \times \frac{X^{C-S}}{Y}\ \frac{II^{Cy}}{II^{Pm}}\ \frac{III^{D}}{III^{Sb}} \rightarrow \frac{X^{b\ cn\ vg}}{Y}\ \frac{II^{Cy}}{II^{b\ cn\ vg}}\ \frac{III^{D}}{III^{b\ cn\ vg}}$

b. $\frac{X^{C-S}}{X^{C-S}}\ \frac{II^{Cy}}{II^{Pm}}\ \frac{III^{D}}{III^{Sb}} \times \frac{X^{b\ cn\ vg}}{Y}\ \frac{II^{Cy}}{II^{b\ cn\ vg}}\ \frac{III^{D}}{III^{b\ cn\ vg}} \rightarrow \frac{X^{C-S}}{Y}\ \frac{II^{Cy}}{II^{b\ cn\ vg}}\ \frac{III^{D}}{III^{b\ cn\ vg}}$

c. $\frac{X^{C-S}}{X^{C-S}}\ \frac{II^{Cy}}{II^{Pm}}\ \frac{III^{D}}{III^{Sb}} \times \frac{X^{C-S}}{Y}\ \frac{II^{Cy}}{II^{b\ cn\ vg}}\ \frac{III^{D}}{III^{b\ cn\ vg}} \rightarrow \frac{X^{C-S}}{Y}\ \frac{II^{Cy}}{II^{b\ cn\ vg}}\ \frac{III^{D}}{III^{b\ cn\ vg}};$

$$\frac{X^{C-S}}{X^{C-S}}\ \frac{II^{Cy}}{II^{b\ cn\ vg}}\ \frac{III^{D}}{III^{b\ cn\ vg}}$$

$$d.\ \frac{X^{C-S}}{X^{C-S}}\ \frac{II^{Cy}}{II^{b\ cn\ vg}}\ \frac{III^{D}}{III^{b\ cn\ vg}} \times \frac{X^{C-S}}{Y}\ \frac{II^{Cy}}{II^{b\ cn\ vg}}\ \frac{III^{D}}{III^{b\ cn\ vg}} \rightarrow \frac{X^{C-S}}{Y}\ \frac{II^{b\ cn\ vg}}{II^{b\ cn\ vg}}\ \frac{III^{b\ cn\ vg}}{III^{b\ cn\ vg}};$$

$$\frac{X^{C-S}}{X^{C-S}}\ \frac{II^{b\ cn\ vg}}{II^{b\ cn\ vg}}\ \frac{III^{b\ cn\ vg}}{III^{b\ cn\ vg}}$$

Синтезированную путем направленных скрещиваний форму обозначили как *b cn vg (1 C-S)*.

Длительность жизни мух при голодании определяли, помещая их в пробирки без корма (по 10 особей каждого пола). Подсчет выживших мух в течение первых суток проводили через каждые 6 часов, а в дальнейшем через каждые 3 часа до полной гибели мух в каждой пробирке и выражали в часах, на которые пришлась гибель 50% мух (Lt_{50}) [5].

Частоту кроссинговера определяли по числу рекомбинантных классов, полученных в анализирующем скрещивании тригетерозигот по маркерным генам *b cn vg*, и выражали в процентах.

Получение тригетерозигот, постановку анализирующих скрещиваний и учет кроссоверных классов осуществляли по общепринятым схемам [6, 7].

Результаты исследований и их анализ

С целью выявления зависимости частоты кроссинговера от состояния генного баланса исследовали рекомбинационную активность у мутантов *Drosophila melanogaster* с замещенной хромосомой – *b cn vg (1C-S)* и замещенным генотипом – *b cn vg (C-S)*.

Как следует из данных, представленных в таблице 1, замещение генотипа у мутантов *b cn vg* привело к повышению частоты кроссинговера между генами *b* и *vg* на 38%. При этом рекомбинационная активность на участке *b-cn* возросла в 1,8 раза, а на участке *cn-vg* осталась такой же, как и у исходных мутантов *b cn vg*.

Замещение хромосомы 1 у исследуемых мух также вызвало повышение частоты рекомбинаций, отмеченное только на участке *b-cn* (в 1,6 раза). Рекомбинационная активность на участке *cn-vg*, как и в целом на участке *b-vg*, не претерпела изменений по сравнению с мухами *b cn vg*.

Очевидно, что перестройки генотипа у мутантов *b cn vg*, вызванные возвратными скрещиваниями с линией *C-S*, и введением им хромосомы 1 от мух дикого типа, привели к изменению генного баланса и, как следствие, – к увеличению частоты кроссинговера в определенных участках хромосомы 2.

Таблица 1

Частота кроссинговера (%) на участке *b-cn-vg* у различающихся по генотипу мутантов *b cn vg*

Генотип	Участок хромосомы		
	b-cn	*cn-vg*	*b-vg*
b cn vg	7.42 ± 1.21	12.55 ± 1.38	19.97 ±2.04
b cn vg (C-S)	13.64 ± 1.74*	13.93 ± 1.20	27.60 ± 2.21*
b cn vg (1 C-S)	11.53 ± 1.00*	12.46 ± 1.17	23.99 ± 2.29

Примечание: * – различия достоверны по сравнению с соответствующим участком у линии *b cn vg*.

На разную рекомбинационную активность различных участков хромосом указывают данные многих авторов [7-10]. В частности, установлено, что центромера с прилегающим к ней гетерохроматином играет особую роль в механизме перекреста хромосом. При этом показано, что в норме вблизи центромеры перекрест происходит редко.

В соответствии с локализацией маркерных мутаций в группе сцепления хромосомы 2 участок *b-cn* является прицентромерным (рис. 1). По-видимому, этим объясняется пониженная рекомбинационная активность между генами *b* и *cn*, отмеченная у мутантов *b cn vg* в норме (табл. 1).

Частота кроссинговера на участке *b-cn* составила 7,42 %, а на участке *cn-vg* – 12,55%, в то время как теоретические расстояния между генами *b-cn* и *cn-vg* отличаются незначительно и составляют 9 и 9,5 сМ соответственно (рис. 1).

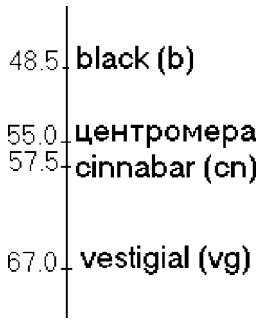


Рис. 1. Фрагмент карты хромосомы 2 Drosophila melanogaster [11]

Можно предположить, что вызванные путем направленных скрещиваний перестройки генотипа у мутантов *b cn vg* индуцировали повышение частоты перекрестов, в частности, за счет их усиления в прицентромерном районе хромосомы.

Как следует из данных литературы [12, 13], объединение генов в блоки позволяет защитить их адаптивное сочетание от разрушений в процессе рекомбинаций и в то же время сохранить возможность образования новых

норм реакций за счет появления более адаптивных сочетаний генов в изменившихся условиях среды.

Не вызывает сомнения тот факт, что любые изменения генотипов, направленные на создание новых форм, приводят к существенным изменениям генного баланса и, следовательно, к изменению показателей их приспособленности.

Последнее подтверждено рядом работ по замещению отдельных генов или хромосом у *Drosophila melanogaster* [14-17].

Для изучения приспособленности дрозофилы в условиях измененного генотипа исследовали устойчивость к голоданию у мух дикого типа *C-S*, исходных мутантов *b cn vg*, а также у синтезированных форм *b cn vg (C-S)* и *b cn vg (1 C-S)*.

Полученные данные свидетельствуют о пониженной устойчивости к голоданию мутантов *b cn vg* (табл. 2). Самки *b cn vg* живут в отсутствие корма на 15,6 часа меньше, а самцы – на 11 часов меньше по сравнению с мухами дикого типа. Причиной низкой устойчивости к голоданию тройных мутантов может быть плейотропное действие маркерных мутаций и измененный генный баланс тройного мутанта.

Таблица 2

Продолжительность жизни в условиях голодания мутантов *b cn vg*, различающихся по генотипу (Lt_{50}), часы

Генотип	Самки	Самцы	Самки и самцы
C-S	72,00±2,85**	59,00±2,04***	65,50±2,21**
b cn vg	56,40±2,32	48,00±1,73*	52,42±1,74
b cn vg (C-S)	71,25±2,39**	61,17±1,87***	66,21±1,44**
b cn vg (1 C-S)	72,00±2,24**	63,27±1,91***	67,25±1,67**

Примечание: * — различия достоверны по сравнению с самками

** — различия достоверны по сравнению с линией *b cn vg*

Замещение хромосомы 1 и насыщение генотипа мутантов *b cn vg* генами линии *C-S* приводило к повышению выживаемости самок и самцов в условиях полного голодания. В целом продолжительность жизни при голодании у мух с измененным генотипом возросла в 1,3 раза по сравнению с мухами исходной линии *b cn vg*.

Таким образом, результаты исследований указывают на существование тесной связи между перестройками генотипа, частотой кроссинговера в определенных участках хромосом и приспособленностью организма.

Параметры, характеризующие рекомбинацию (частота и распределение кроссоверов), необходимо учитывать при изучении адаптивности и сбалансированности генома.

Литература

1. *Дубинин Н. П.* Общая генетика. – М.: Наука, 1976. – 590 с.
2. *Тоцкий В. Н., Хаустова Н. Д., Гандирук Н. Г.* Генный баланс и адаптация природных и искусственно созданных генотипов *Drosophila melanogaster* // Труды по фундам. и прикл. генетике. – Харьков: Штрих, 2001. – С. 140 –151.
3. *Тоцкий В. Н., Хаустова Н. Д., Алшибли Н. М., Сечняк А. Л.* Генетико-биохимические механизмы онтогенетической и филогенетической адаптации // Цитология и генетика. – 2002. – Т. 36. – № 3. – С. 69 – 75.
4. *Luckinbill L. S., Graves J. L., Reed A. H., Koetsawang S.* Localizing genes that defer senescence in *Drosophila melanogaster* // Heredity. – 1988. – V. 60. – № 3. – P. 367 – 374.
5. *Dorado G., Barbancho M.* Differential responses in *D.melanogaster* to environmental ethanol: modification of fitness components at Adh locus // Heredity. – 1984. – V. 53. – № 2. – P. 309 – 320.
6. *Медведев Н. Н.* Практическая генетика. – М.: Наука, 1968. – 293 с.
7. *Тоцький В. М.* Генетика. – Одеса.: Астропринт, 2002. – 710 с.
8. *Айала Ф., Кайгер Д.* Современная генетика – М.: Мир, 1987 – Т. 1. – 295 с.
9. *Roberts P. A.* Difference in the behavior of eu- and heterochromatin crossing-over // Nature. – 1965. – V. 205. – № 4972. – P. 725 – 726.
10. *Барабанова Л. В., Мамон Л. А.* Роль прицентромерного гетерохроматина дрозофилы в рекомбинации у гетерозигот по транслокациям // I Всесоюз. конф. по генетике насекомых (Москва, 19 – 21 ноября 1991). Тез. докл. – М., 1991. – С. 16.
11. *Эрман Л., Парсонс П.* Генетика поведения и эволюция. – М.: Мир, 1984. – 566 с.
12. *Жученко А. А.* Экологическая генетика культурных растений. – Кишинев: Штиинца, 1980. – 583 с.
13. *Высоцкая Л. В.* Эволюционное становление системы внутривидовой рекомбинационной изменчивости на примере трибы Bryodemini // I Всесоюз. конф. по генетике насекомых (Москва, 19 – 21 ноября 1991). Тез. докл. – М., 1991. – С. 27.
14. *Тоцкий В. Н., Хаустова Н. Д., Моргун С. В., Левчук Л. В.* Ген-энзимная система алкогольдегидрогеназы при замещении хромосом и других изменениях генотипа у *Drosophila melanogaster* // Укр. биохим. журн. – 1998. – Т. 70. – № 5. – С. 42 – 51.
15. *Левчук Л. В., Тоцький В. М.* Заміщення хромосом і пристосованість генотипів *Drosophila melanogaster* // Цитологія і генетика. – 1998. – Т. 32. — № 2. – С. 42 – 48.
16. *Хаустова Н. Д., Моргун С. В.* Ген-энзимная система АДГ и приспособленность мутантов *Drosophila melanogaster* // Генетика. – 1999. – Т. 35. – № 5. – С. 600 – 605.
17. *Моргун С. В., Левчук Л. В.* Пристосованість *Drosophila melanogaster* за штучних змін генотипів // Вісник Одеського державного університету. – 1999. – Т. 3. – № 4. – С. 36 – 40.

Н. Д. Хаустова, Алшіблі Нассер, В. М. Тоцький, О. В. Блажнова
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра генетики та молекулярної біології
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна.

ЧАСТОТА КРОСИНГОВЕРУ ЯК ПОКАЗНИК ГЕННОГО БАЛАНСУ ТА ПРИСТОСОВАНОСТІ ДРОЗОФІЛИ

Резюме

Вивчали частоту рекомбінацій в хромосомі 2 та пристосованість (стійкість до голодування) за перебудов генотипу мутантів *b cn vg Drosophila melanogaster*.

З'ясувалося, що насичення генотипу потрійних мутантів генами мух дикого типу *C-S* та заміщення хромосоми 1 на відповідну хромосому останніх, призводить до підвищення частоти кросинговеру на ділянці *b-cn*. Перебудови генотипу супроводжувалися підвищенням рівня пристосованості мух до умов повного голодування.

Ключові слова: кросинговер, генний баланс, пристосованість, дрозофіла.

N. D. Khaustova, Al-Shibly Nasser, V. N. Totsky, E. V. Blazhnova
Odessa National I.I. Mechnikov University,
Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya Str., 2, Odessa, 65026, Ukraine.

RECOMBINATION FREQUENCY AS PARAMETR OF DROSOPHILA GENE BALANCY AND FITNESS

Summary

Recombination frequency in chromosome 2 and fitness (starvation resistance) has been studied in *Drosophila melanogaster* mutant *b cn vg* under genotype change.

It has been found out that genotype changes influence on crossing over frequency in *b-cn* region and starvation resistance of Drosophila.

Key words: crossing over, gene balancy, fitness, Drosophila.

ГІДРОБІОЛОГІЯ

УДК 594.124.(262.5)

А. Ю. Варигин
Одесский филиал Института биологии южных морей НАН Украины,
отдел популяционной экологии беспозвоночных,
ул. Пушкинская, 37, Одесса, 65011, Украина

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ХАРАКТЕРИСТИК ВЕСОВОГО РОСТА МИДИЙ В СЕВЕРО-ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ЧЕРНОГО МОРЯ

Представлены уравнения весового роста мидий из 13 районов северо-западной части Черного моря. Определены соотношения характеристик возрастной изменчивости показателей массы моллюсков (общей прижизненной, раковины, сырых мягких тканей). Перегиб кривой весового роста мидий в большинстве изученных районов наступает в точке, соответствующей возрасту трехлетних моллюсков.
Ключевые слова: мидия, весовой рост, точка перегиба кривой весового роста.

Введение

Большинство данных по росту черноморских мидий (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) было получено в результате экспериментальных работ, проведенных в отдельных районах моря [1, 2]. С тех пор как был разработан метод, позволяющий достоверно определять возраст мидий [3], стали появляться данные о их росте в естественных условиях [4]. Однако в этих работах описывается, в основном, линейный рост моллюсков. Характеристики весового роста мидий из естественных поселений представляют определенный интерес в связи с возможностью оценки продукционного потенциала этих моллюсков.

Целью работы был анализ кривых весового роста мидий, включая изучение положения точки их перегиба, соотношения абсциссы этой точки с продолжительностью жизни моллюсков, сопоставление параметров уравнений роста для различных частей тела мидий, а также исследование связи изучаемых показателей с абиотическими факторами среды (глубиной и степенью открытости районов обитания мидий, а также интенсивностью влияния на них речного стока).

Материал и методы

Материалом для работы послужили пробы мидий, собранные в мае 1985 г. с помощью дночерпателя Петерсена с площадью захвата 0,25 м^2 в тринадцати различных районах северо-западной части Черного моря, в которых наблюдались наиболее массовые их скопления (рис. 1).

© А. Ю. Варигин, 2003

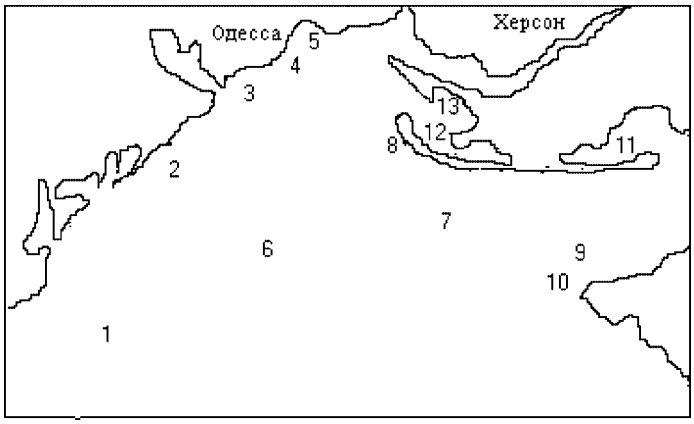


Рис. 1. Расположение районов исследований в северо-западной части Черного моря. 1 – о-в Змеиный, 2 – Шаганская банка, 3 – Днестровская банка, 4 – Санжейка, 5 – Одесский залив, 6 – Центральный район, 7 – Филлофорное поле, 8 – Тендровский район, 9 – Межводное, 10 – Черноморское, 11 – Джарылгачский залив, 12 – Тендровский залив, 13 – Егорлыцкий залив

Длину раковины, общую прижизненную массу, массу раковины, а также массу сырых мягких тканей мидий измеряли согласно общепринятым гидробиологическим методикам [5]. Возраст моллюсков определяли методом склерохронологии по сезонным слоям роста, выявляемым во внутреннем перламутровом слое раковин на радиальных (от макушки к заднему краю) срезах створок [3, 6]. Линейный рост мидий аппроксимировали с помощью уравнения Берталанфи [7]

$$L_t = L_\infty \left[1 - e^{-k(t - to)} \right], \tag{1}$$

где L_t — длина мидии в возрасте t, L_∞ — асимптотическая (предельная) длина мидий, k – показатель возрастного замедления скорости роста моллюска, t_0 – возраст, который соответствует длине мидии, равной нулю при экстраполяции кривой роста до оси абсцисс. Коэффициенты L_∞, k и t_0 находили методом Форда-Уолфорда [7] с использованием средних значений длины раковины одновозрастных особей [4].

Известно, что эмпирическая кривая не только линейного, но и весового роста моллюсков хорошо описывается уравнением Берталанфи [7]. Для перехода от линейного роста мидий к весовому была применена методика [5], основанная на использовании уравнения

$$W = aL^b, \tag{2}$$

определяющего зависимость массы (W) моллюска от его длины (L).

В качестве модели весового роста мидий использовали уравнение Берталанфи в виде:

$$W_t = W_\infty \left[1 - e^{-k(t - t_o)}\right]^b, \qquad (3)$$

где W_t – масса моллюска (граммы) в возрасте t (годы), W_∞ – асимптотическая (предельная) масса, k и t_0 – коэффициенты уравнения (1), b – коэффициент уравнения (2)

Как известно, кривая весового роста животных, описываемая уравнением (3), имеет точку перегиба, в которой ускорение роста меняется с положительного на отрицательное. Координаты точки перегиба определяли, принимая в формуле (3) значение ускорения роста равное нулю [7]. Отсюда абсцисса точки перегиба кривой T^* (годы) вычислялась по формуле

$$T^* = t_0 + \frac{\ln b}{k} \qquad (4)$$

где t_0, b и k – коэффициенты уравнения (3). Подставляя значение T^* в уравнение (3), после несложных преобразований получаем ординату точки перегиба кривой W^* (граммы), которая вычисляется по формуле

$$W^* = W_\infty \cdot \left(\frac{b-1}{b}\right)^b, \qquad (5)$$

где W_∞ и b – коэффициенты уравнения (3).

Продолжительность жизни мидий определяли по широко используемой формуле [8, 9]

$$D = \frac{\ln L_\infty - \ln\left(L_\infty - L_{\max}\right)}{k} \qquad (6)$$

где D – продолжительность жизни (годы), $L_{\max}$ – максимальная длина мидий в изучаемом районе, L_∞ и k – коэффициенты соответствующего уравнения (1).

Степень соответствия эмпирических и расчетных кривых роста мидий определяли, используя среднее процентное отклонение [10]. Оценку возможной зависимости изучаемых показателей от факторов среды проводили с помощью дисперсионного и регрессионного анализов [11].

Результаты исследований и их анализ

Все изученные характеристики роста мидий, а также показатели продолжительности их жизни представлены в таблице.

Ордината точки перегиба кривой роста мидий W^* не представлена в таблице, так как она обычно составляет около 29 % от соответствующей асимптотической массы W_∞. Это обусловлено тем, что в уравнении (2) коэф-

фициент b в большинстве случаев не отличается значимо от 3, что характерно для митилид [12]. Таким образом, при изометрическом характере роста моллюсков формула (5) представляет собой соотношение $W^*= 0{,}296 \cdot W_\infty$ [8].

Таблица 1

Показатели весового роста мидии в различных районах Черного моря

№	H	N	Общие показатели			Живой моллюск			Раковина			Мягкие ткани		
			k	t_0	D	b	W_∞	T^*	b	W_∞	T^*	b	W_∞	T^*
1	18	407	0,29	-0,93	8,7	3,19	7,86	3,1	2,88	3,14	2,7	*3,60*	3,45	3,5
2	10	121	0,46	-0,28	4,3	3,00	7,78	2,1	2,85	2,76	2,0	*3,47*	3,86	2,4
3	9	285	0,21	-0,90	5,0	*2,70*	23,21	4,4	*2,50*	6,70	4,0	2,74	10,4	4,5
4	7	194	0,21	-0,57	9,6	3,13	18,42	4,8	*2,78*	7,22	4,3	*3,70*	9,58	5,6
5	8	465	0,21	-0,79	4,8	2,92	19,56	4,2	*2,83*	8,93	4,1	3,28	10,3	4,7
6	27	184	0,31	-0,61	6,6	2,91	5,97	2,9	2,93	4,18	2,9	*2,88*	1,78	2,9
7	24	138	0,38	-0,19	5,2	2,94	12,69	2,6	3,07	6,65	2,7	3,19	5,52	2,8
8	12	102	0,30	-0,43	4,4	*2,66*	15,38	2,8	*2,89*	6,75	3,1	*2,81*	6,59	3,0
9	19	165	0,24	-0,22	9,0	2,91	28,69	4,3	*2,88*	12,9	4,2	*3,35*	16,8	4,8
10	30	127	0,34	0,08	7,7	2,87	8,02	3,2	3,00	5,51	3,3	*2,60*	2,42	2,9
11	8	329	0,26	-0,90	12,3	2,80	54,72	3,0	*2,68*	25,2	2,8	*2,51*	9,08	2,6
12	3	104	0,56	-0,36	4,3	2,81	30,15	1,5	2,94	12,5	1,6	2,94	10,1	1,6
13	4	312	0,20	-0,92	15,7	*2,53*	32,58	3,0	2,88	21,7	3,6	*2,41*	7,01	2,8

Примечание: № – соответствует номеру района, обозначенному на рис. 1; H – глубина обитания мидий, м; N – объем выборки, экз.; W_∞, k, t_0, b – коэффициенты уравнения (3); T^* – возраст, на который приходится точка перегиба кривой весового роста мидий, годы; D – продолжительность жизни мидий, годы. Курсивом выделены значения b, достоверно отличающиеся от 3 (P=0,05)

Известно, что асимптотичекая масса $W\infty$ — это лишь теоретический предел, который в реальности не достигается. Однако, коэффициент W_∞ согласно уравнению (3) является одним из параметров, определяющих вид кри-

вой роста. Поэтому сопоставление значений этого параметра в уравнениях роста для различных частей тела моллюска отражает реальное соотношение их массы.

При сопоставлении значений W_∞ в уравнениях роста для раковины и для сырых мягких тканей мидий наблюдаются различия, связанные с условиями обитания моллюсков в том или ином районе. Так, у мидий из мелководных открытых районов (глубина 7 – 9 м), находящихся между устьями Днестра и Днепра (Днестровская банка, Санжейка, Одесский залив), а также Шаганской банки было отмечено превышение (в 1,2 – 1,6 раза) W_∞ для мягких тканей над соответствующим показателем для раковины. Подобное превышение (в 1,3 раза) было характерно для мидий из района Межводное. У мидий из Тендровского района и о-ва Змеиный (глубина 12 – 18 м) эти параметры различались незначительно.

Для моллюсков из глубоководных районов (глубина 24 – 30 м), удаленных от устьев рек (Филлофорное поле, Центральный район и Черноморское) наблюдалось обратное соотношение этих параметров – асимптотическая масса W_∞ в уравнениях роста для раковины была больше (в 1,2 – 2,3 раза), чем для сырых мягких тканей. Причем, в двух последних из этих районов зафиксированы минимальные для мидий в северо-западной части Черного моря значения W_∞ для сырых мягких тканей (1,78 и 2,42 соответственно).

У моллюсков из мелководных (глубина 3 – 8 м) полузакрытых заливов (Егорлыцкого, Джарылгачского) было отмечено значительное превышение (в 2,8 – 3 раза) W_∞ для раковины над W_∞ для тканей. Для мидий из Тендровского залива это превышение не столь существенно (в 1,2 раза), что связано с меньшей продолжительностью их жизни (4,3 года) в этом районе. Для мидий Джарылгачского залива рассчитаны максимальные в северо-западной части Черного моря значения W_∞ для раковины (25,21).

Продолжительность жизни мидий D, рассчитанная по формуле (6) оказалась очень близкой к реальному максимальному возрасту особей, обнаруженных в том или ином районе. Этот факт свидетельствует о достаточно тесном соответствии эмпирической и расчетной кривых роста мидий [13]. Отклонения между эмпирическими и вычисленными значениями составляли в среднем ± 3,41 % .

При сопоставлении абсциссы T^* (т.е. времени) точки перегиба кривой роста мидий с продолжительностью жизни D в каждом изученном районе были получены их соотношения, колеблющиеся в широких пределах (T^* составляло от 22,8 до 85 % от D). С помощью LSD-процедуры однофакторного дисперсионного анализа [11] были выделены три гомогенных группы районов, в которых моллюски характеризуются статистически различающимися соотношениями T^* и D. Большинство из открытых районов, удаленных от устьев рек, попали в первую группу. Здесь у мидий перегиб кривой роста наступал в возрасте, составляющем в среднем 43,1 % от их продолжительности жизни. Во вторую группу попали прибрежные районы, подверженные влиянию стока Днестра и Днепра (Днестровская банка, Одес-

ский залив, Тендровский район). Для мидий из этих районов T^* составляло в среднем 78,6 % от D. В третью группу были включены мелководные полузакрытые заливы (Джарылгачский и Егорлыцкий). Не смотря на то, что в этих заливах была отмечена самая высокая продолжительность жизни мидий (12 – 15 лет), перегиб кривой роста у них происходил в возрасте T^*, составляющем в среднем 22,8 % от D.

Для мидий из большинства изученных районов перегиб кривой роста наступал вне зависимости от их продолжительности жизни в возрасте около трех лет. Такое же время наступления перегиба этой кривой можно рассчитать по данным, представленным для мидий Одесской банки в работе А. И. Иванова [14]. Однако положение точки перегиба кривой роста мидий в каждом конкретном случае зависит от темпов их роста. Так, согласно формуле (4), если коэффициент b значимо не отличается от 3, то абсцисса точки перегиба кривой T^* связана с константой скорости роста k обратно пропорциональной зависимостью. Регрессионный анализ показал статистически достоверную связь между T^* и k ($P<0,01$) с высокими коэффициентами корреляции ($r = -0,891$) и детерминации ($R^2 = 79,38$ %).

Межрайонные различия в характере роста лучше всего проявляются при изучении ежегодных абсолютных приростов массы моллюсков. В качестве абсолютного прироста принимается разница между массой мидий в исследуемый и в предшествующий год [8]. Возрастные изменения абсолютных приростов общей прижизненной массы мидий из трех районов показаны на рис. 2.

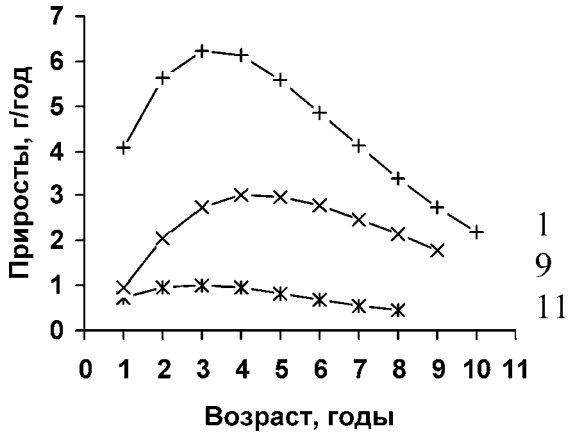


Рис. 2. *M. galloprovincialis*. Возрастные изменения скорости роста общей массы. 1 – о-в Змеиный, 9 – Межводное, 11 – Джарылгачский залив.

Наивысшая точка каждой из кривых, представленных на рис. 2, соответствует абсциссе точки перегиба T^* кривой роста мидий. Так, для моллюсков из районов о-ва Змеиный и Джарылгачского залива перегиб кривой наступает в возрасте трех лет. Однако максимальные приросты (т. е. скорость роста) в году, предшествующем точке перегиба составляют в первом

случае 1 г·год$^{-1}$, а во втором — 6,2 г·год$^{-1}$. Кривая для мидий из района Межводное занимает промежуточное положение – абсолютная скорость роста в году, предшествующем точке перегиба (T^*= 4,3 года) составляет 3 г·год$^{-1}$.

Кривые, представленные на рис. 2, наглядно демонстрируют разницу в характере роста мидий, определяемую коэффициентами уравнения (3). Так, при незначительном различии k, коэффициент W_∞ для мидий из района о-ва Змеиный составляет 7,86 (W^* = 2,37), из района Межводного – 28,69 (W^* = 8,43), Джарылгачского залива – 54,72 (W^* = 15,85).

Выводы

В северо-западной части Черного моря наибольшие темпы весового роста отмечены у мидий, обитающих в мелководных закрытых заливах. В двух из них (Джарылгачском и Егорлыцком) увеличение общей массы происходит в большей степени за счет раковины, чем мягких тканей. Наименьшие темпы роста зафиксированы для мидий из глубоководных районов северо-западной части Черного моря. Перегиб кривой весового роста в большинстве изученных районов наступает в точке, соответствующей возрасту трехлетних мидий.

Литература

1. *Иванов А. И.* Изучение роста черноморских мидий (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) при помощи подводных наблюдений //. Зоол. ж. – 1965. – Т. 44, вып. 2. – С. 178 – 184.
2. *Славина О. Я.* Рост мидий в Севастопольской бухте // Бентос.–К: Наук. думка, 1965. – С. 24 – 29.
3. *Шурова Н. М., Золотарев В. Н.* Сезонные слои роста в раковинах мидии Черного моря // Биол. моря. – 1988. – № 1. – С. 18 – 22.
4. *Шурова Н. М., Золотарев В. Н., Варигин А. Ю.* Особенности роста мидии *Mytilus galloprovincialis* в северо-западной части Черного моря // Биол. моря. – 1991. – № 4. – С. 70–79.
5. *Алимов А. Ф., Львова А. А., Макарова Г. Е., Солдатова И. Н.* Рост и возраст // Методы изучения двустворчатых моллюсков / Под ред. Г.Л. Шкорбатова и Я.И. Старобогатова. – Л., 1990. – С. 121 – 140. – (Тр. ЗИН, Т. 219).
6. *Золотарев В. Н.* Склерохронология морских двустворчатых моллюсков. – К.: Наук. думка, 1989. – 112 с.
7. *Мина М. В., Клевезаль Г. А.* Рост животных. – М.: Наука, 1976. – 291 с.
8. *Алимов А. Ф.* Функциональная экология пресноводных двустворчатых моллюсков – Л.: — Наука, 1981. – 248 с.
9. *Кафанов А. И.* Рост и продукция двустворчатого моллюска *Macoma balthica* в лагуне Набиль (северо-восток Сахалина) // Биол. моря. – 1985. – № 6. – С. 23 – 31.
10. *Kruger F.* Zur Mathematik des tierischen Wachstums. II. Vergleich einiger Wachstumsfunktionen // Helgolander wiss Meeresuntes. – 1973. – 25. – P. 509 – 550.
11. *Афифи А., Эйзен С.* Статистический анализ. – М.: Мир, 1982. – 488 с.
12. *Алимов А. Ф., Голиков А. Н.* Некоторые закономерности соотношения между размерами и весом у моллюсков // Зоол. журн. – 1974. – Т. 53, вып. 4. – С. 517 – 530.
13. *Болтачева Н. А., Малзумян С. А.* Линейный рост и продолжительность жизни моллюска *Chamelea gallina* (Bivalvia: Veneridae) в Черном море // Экол. моря. – 2001. – вып. 55.– С. 50–52.
14. *Иванов А. И.* Рост черноморских мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. на Одесской банке // Гидробиол. журн. – 1967. – Т. 3, № 2. – С. 20 – 25.

А. Ю. Варігін
Одеська філія Институту біології південних морів НАН України,
відділ популяційної екології безхребетних,
вул. Пушкінська, 37, Одеса, 65011, Україна

МІНЛИВІСТЬ ХАРАКТЕРИСТИК ВАГОВОГО РОСТУ МІДІЙ З ПІВНІЧНО-ЗАХІДНОЇ ЧАСТИНИ ЧОРНОГО МОРЯ

Резюме

Представлено рівняння вагового росту мідій з 13 районів північно-західної частини Чорного моря. Визначено співвідношення характеристик вікової мінливості показників маси молюсків (загальної прижиттєвої, черепашки, сирих м'яких тканин). Перегин кривої вагового росту мідій у більшості вивчених районів настає в точці, що відповідає віку трирічних молюсків.

Ключові слова: мідія, ваговий ріст, точка перегину кривої вагового росту.

A. Yu. Varigin
Odessa branch of Institute of biology of the Southern seas of Ukrainian National Academy of Sciences, Department of Population Ecology of Invertebrates
37, Pushkinskay St., Odessa, 65011, Ukraine

VARIABILITY OF WEIGHT GROWTH CHARACTERISTICS OF MUSSELS FROM THE NORTHWEST PART OF THE BLACK SEA

Summary

The weight growth equations for mussels from 13 regions of the north-western part of the Black Sea are represented. The interrelations of the characteristics of age variability of mass parameters of mussels (total, shell, wet soft tissues) are determined. In majority of studied regions the bend of weight growth curve appeared at the point corresponding to the 3-years old mussels.

Key words: mussel, weight growth, the bend of weight growth curve.

УДК 574.64

С. В. Гаранина, асп.
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
каф. гидробиологии и общей экологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ПЕСТИЦИДОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕСТ-ОБЪЕКТА *DAPHNIA MAGNA STRAUS* (CRUSTACEAE, CLADOCERA)

Установлены концентрации пестицидов – шерпы (циперметрина 25%), аплауда (бупрофезина 25%), топаза (пенканазола 10%), вызывающие гибель и влияющие в последующих поколениях на плодовитость и развитие *Daphnia magna* Straus.
Ключевые слова: *Daphnia magna S.*, плодовитость, развитие, пестициды.

В настоящее время в водной токсикологии среди ксенобиотиков, требующих тщательного изучения, особый интерес представляют пестициды нового поколения, которые в большом количестве поступают на украинский рынок и находят широкое применение.

В окружающей среде пестициды разлагаются с различной скоростью. Их остатки смываются с поверхностным стоком и загрязняют гидросферу. Для изучения влияния пестицидов на гидробионтов применяют стандартный метод биотестирования с использованием *Daphnia magna* S. (тип *Arthropoda*, класс *Crustacea*, отряд *Cladocera*) в качестве обязательного тест-объекта, включенного в схему установления ПДК веществ-загрязнителей [1, 2].

Целью данных исследований было изучение действия пестицидов, в частности шерпы (циперметрин 25%), аплауда (бупрофезин 25%), и топаза (пенканазол 10%), на *D. magna* и установление токсических свойств этих пестицидов.

Материалы и методы

Для биотестирования использовали новорожденную молодь дафнии, полученную в лабораторных условиях. Опыты проводили на дафниях одного возраста с целью снижения вариабельности результатов [4].

Острые (кратковременное воздействие токсикантов на выживаемость дафний) и хронические (долгосрочное влияние субвитальных концентраций) опыты проводили с применением отстоянной и проаэрированной водопроводной воды pH 7,5 при температуре 24 – 25^{0}C в стеклянных стаканах емкостью 300 мл. в трех повторностях по 10 дафний на каждую концентрацию пестицида [5, 6, 7].

© С. В. Гараніна, 2003

На первом этапе исследований проводили острые опыты, длительность которых составляла около 10 дней. В начале определяли значения первоначальных, остролетальных концентраций изучаемых пестицидов по гибели рачков. На основании полученных данных ставили основной острый опыт с использованием концентраций: 0,05, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01, 0,004, 0,006 и 0,008 мг/л.

По результатам острых опытов определяли среднюю (медианную) летальную концентрацию раствора пестицида ($ЛК_{50}$), вызывающую гибель 50% дафний, летальную концентрацию ($ЛК_{100}$), при которой гибнут все дафнии, и пороговую (витальную) концентрацию ($ЛК_0$), при которой выживают все тест-объекты.

Полученные цифровые данные обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента [8].

В хронических опытах общее количество жизнеспособной молоди, полученной от одной самки за 30 суток, отражало величину реальной плодовитости дафний. Эта величина определяла сохранность вида и имела решающую роль при оценке токсичности пестицидов. Патологические отклонения определяли по появлению абортивных яиц, уродливой, мертворождённой и нежизнеспособной молоди, а также по отклонениям в развитии яиц на ювенальных стадиях (I – III), при созревании яиц в яичнике (IV), при откладке яиц в выводковую камеру (V) откладывании яиц (VI). Все эти отклонения суммировались с реальной плодовитостью и составили потенциальную плодовитость рачков. Всего исследовано 5 поколений дафний. Полученные данные сравнивали с контролем [6, 9].

Результаты и их обсуждение

Анализ результатов острых опытов с *D. magna* показал, что циперметрин в концентрации 0,05 мг/л угнетающе действовал на рачков с момента помещения их в раствор. Гибель 50% рачков наблюдалась через 15 минут, а через 2 часа имела место 100% летальность дафний. Острое токсическое действие этого препарата наблюдали и при концентрации 0,026 мг/л: через 90 мин погибали 70% особей. При концентрации 0,012 мг/л циперметрина острая токсичность проявлялась при более продолжительном его воздействии: через 96 часов гибель молоди дафний составляла 70%.

Витальные ($ЛК_0$), медианные ($ЛК_{50}$) и летальные ($ЛК_{100}$) концентрации циперметрина для молоди *D. magna* представлены в табл. 1.

В результате острых опытов с применением бупрофезина было установлено, что при концентрации 0,05 мг/л гибель 50 % дафний наблюдается через 30 мин, 100% — на вторые сутки. При концентрации 0,017 мг/л и длительности воздействия 48 часов выживаемость дафний составляла 50% , а при концентрации 0,012 мг/л — 30% через 96 часов. Были установлены $ЛК_0$, $ЛК_{50}$, $ЛК_{100}$, которые приведены в табл. 2.

В острых опытах нижний порог токсичности циперметрина для дафний через 96 часов составлял 0,006 мг/л.

Таблица 1

Показатели токсичности циперметрина для *D. magna*

Время воздействия (часы)	$ЛК_0$ мг/л	$ЛК_{50}$ мг/л	$ЛК_{100}$ мг/л
2	0,014	0,026	0,05
24	0,008	0,019	0,04
48	0,008	0,018	0,03
72	0,006	0,014	0,02
96	0,006	0,012	0,02

Таблица 2

Показатели токсичности бупрофезина для *D. magna*

Время воздействия (часы)	$ЛК_0$ мг/л	$ЛК_{50}$ мг/л	$ЛК_{100}$ мг/л
16	0,016	0,0275	0,05
24	0,009	0,0205	0,04
48	0,008	0,017	0,03
72	0,004	0,013	0,02
96	0,004	0,012	0,02

С увеличением времени воздействия препарата для нижнего и верхнего порогов токсичности требуются меньшие концентрации действующего вещества, а медианная летальная концентрация при этом снижается к концу опыта в 20 раз.

В хронических опытах установлено, что бупрофезин в концентрации 0,008 мг/л оказывает угнетающее действие на развитие и размножение *D. magna*. Рачки с первых дней отставали в росте от контрольных, теряли окраску, половое созревание задерживалось. Отмечалось значительное нарушение эмбрионального развития яиц почти в каждом вымете молоди. Лишь у 30% особей эмбриональное развитие протекало нормально с момента поступления их в выводковую камеру и до выхода ювенисов. В 100 из 250 наблюдаемых выметов молоди, т.е. в 44% случаев, развитие яиц останавливалось на III, чаще на IV и V стадиях развития. В 40 выметах молоди (28%) наблюдалось рассасывание 2-5 яиц.

Наиболее сильное воздействие препарат оказывал на развитие яиц первого и второго пометов самок, у которых нарушения в развитии яиц обнаруживались в 90% и 80% случаев.

В связи с этими нарушениями происходило снижение плодовитости самок. При нормальном развитии всех выметанных яиц потенциальная плодовитость пяти пометов могла бы составить более 390 экземпляров молоди, а реальная плодовитость в последующих выметах молоди составила только 25 - 45% от потенциальной. В среднем для пяти выметов реальное число выжившего потомства с учетом смертности молоди в 1 – 3 сутки составило 31% от потенциального, а по количеству недоразвившихся яиц и эмбрионов – 58%. По сравнению с контролем как потенциальная, так и реальная плодовитость самок была очень низкой, что отражено на рис.1.

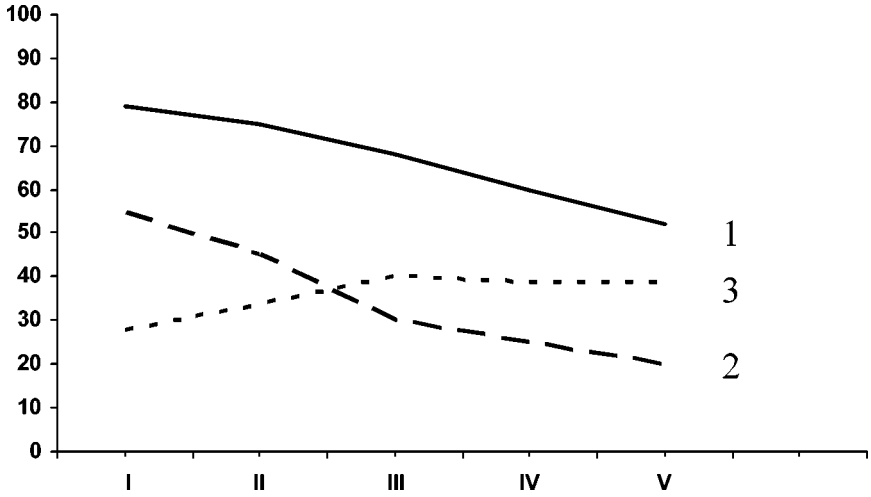


Рис. 1. Потенциальная (1) и реальная (2) плодовитость, смертность (3) *D. magna* в ряду пометов при концентрации бупрофезина 0,008 мг/л. По вертикали – % от контроля. По горизонтали – пометы.

При тестировании пестицида топаза (пенканазола 10%) данные острого опыта практически совпадали с данными тестирования аплауда (бупрофезина 25%), поэтому основное внимание было уделено хроническому опыту при концентрации пенканазола 0,006 мг/л. За 5 выметов молоди количество особей составило 125, из них у 54 (63%) развитие яиц останавливалось на стадии созревания в яичнике и при откладке яиц в выводковую камеру. В 36 выметах количество рассосавшихся яиц составляло в среднем 5 – 6. Эти данные отражены в табл. 3.

В результате анализа плодовитости дафний при разной концентрации пенканазола установлено, что потенциальная плодовитость самок при концентрации этого вещества 0,006 мг/л на 15%, а реальная на 76% выше, чем при концентрации 0,012 мг/л. Таким образом, с увеличением концентра-

ции действующего вещества потенциальная и реальная плодовитость дафний снижаются.

Таблица 3

Влияние пенканазола на плодовитость *D. magna* в пометах

Пометы	Контроль, количество особей	Потенциальная плодовитость, кол-во особей	Количество неразвившихся яиц, смертность	Реальная плодовитость	
				Количество выживших особей	% от потенциальной
I	120	95	29	66	69,4
II	118	94	38	56	69,1
III	115	81	45	36	44,4
IV	110	69	39	30	43,4
V	104	53	33	20	37,7

Количество выметанных в выводковую камеру яиц превосходило число родившихся дафний в среднем на 55%.

Сравнение с контролем потенциального и реального количества экземпляров молоди при концентрации пестицида 0,006 мг/л (рис. 2) показало, что пенканазол в значительной степени снижает реальную плодовитость самок на протяжении всего опыта.

Результаты исследований по изучению токсичности трех различных пестицидов показали, что максимальные концентрации действующих веществ, при которых наблюдалась 100% выживаемость особей ($ЛК_0$), практически совпадали с ПДК, установленными для водной среды [3]. Этот факт позволяет сделать вывод, что биотестирование с применением *D. magna* можно применять для контроля качества воды и определения безопасности водной среды для ракообразных гидробионтов.

При хроническом (в течении 10, 20, 30 суток) воздействии пестицидов *D. magna* с первых же дней отставали в росте от контрольных, теряли окраску, а их половое созревание задерживалось, хотя выживаемость рачков была нормальной. В связи с этим соответствующие концентрации пестицидов были приняты за витальные.

При более продолжительных воздействиях токсикантов обнаруживались нарушения в эмбриональном развитии дафний. Эти отклонения от нормального развития можно использовать как прогностический текст на жизнеспособность и продолжительность жизни дафний в условиях загрязнения.

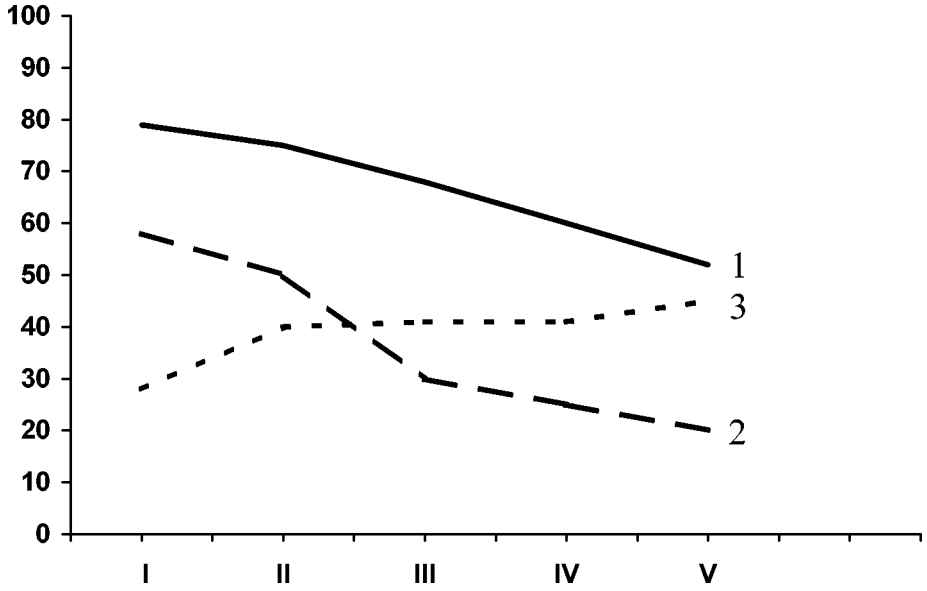


Рис. 2. Потенциальная (1) и реальная (2) плодовитость, а также смертность (3) *D. magna* в ряду пометов при концентрации пенконазола 0,006 мг/л. По вертикали – % от контроля. По горизонтали – пометы.

Литература

1. *Дятлов С. Е.* Биотестирование природных и сточных вод. Методические указания для студентов биол. ф-та – Одесса, 1992. – С. 5 – 15.
2. *Мельников Н. Н., Волков А. И., Короткова О. А.* Пестициды и окружающая среда. – М.: Высшая школа. – 1977. – 339 с.
3. *Перелік* пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. Видання офіційне – К.: Юнівест маркетинг, 1999. – 240 с.
4. *Исакова Е. Ф., Колосова Л. В.* Проведение токсикологических исследований на дафниях. Методы биотестирования качества водной среды. – М.: Изд – во МГУ, 1989. – С. 51 – 62.
5. *Исакова Е. Ф.* Сезонные изменения фактической плодовитости *Daphnia magna* в лабораторной культуре // Гидробиол. журн. – 1980. – Т. 16, № 4. – С. 86 – 89.
6. *Лесников Л. А.* Принципы полуколичественной оценки при анализе влияния токсикантов на поведенческие реакции и патоморфологическое состояние водных организмов. Вопросы методик в водной токсикологии. – Л.: Гос НИИОРХ, 1979. – Вып. 144. – С. 46 – 51.
7. *Лесников Л. А., Исакова Е. Ф., Колосова Л. В.* Опыты на дафниях. Методические рекомендации по установлению предельно допустимых концентраций загрязняющих веществ для воды рыбохозяйственных водоемов. – М., ВНИРО. – 1986. – С. 34 – 48.
8. *Лакин Г. Ф.* Биометрия. – М.: Высшая школа. – 1990. – 352 с.
9. *Строганов Н. С.* Методика определения токсичности среды. Методики биологических исследований по водной токсикологии. – М.: Наука, 1971. – С. 14 – 60.

С. В. Гараніна
Одеський національний університет ім. І.І.Мечникова,
каф. гідробіології та загальної екології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна.

ВИВЧЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ ПЕСТИЦИДІВ З ВИКОРИСТАННЯМ ТЕСТ-ОБ'ЄКТА *DAPHNIA MAGNA* S.

Резюме
З'ясовано токсичні властивості пестицидів з використуванням тест – об'єкта *Daphnia magna* S. Визначені концентрації пестицидів, які зменьшують виживання, тест-об'єктів, а також впливають на їх розвиток та плодючість.

Ключові слова: *Daphnia magna* S., плодючість, розвиток, пестициди.

S. V. Garanina
Odessa National I. I. Mechnikov University, Department of Hydrobiology and General Ecology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine.

TOXICOLOGICAL INVERSTIGATION OF PESTICIDES WITH USE OF TEST-OBJECT *DAPHNIA MAGNA* S.

Summary
It was investigated toxic characteristics of pesticides with use of test – object *Daphnia magna* S. It was determined pesticides concentration which reduse survival and caused death of test – objects and also influenced on their evolution and fertility.

Key word: *Daphnia magna* S., fertility, development, pesticide.

УДК 597.26:574.5(262.5)

В. В. Заморов[1], канд. біол. наук, доц., **С. М. Снігірьов**[2], наук. співроб., **О. В. Сердюк**[2], інж.
[1] Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра гідробіології та загальної екології, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна
[2] Одеське відділення Південного науково-дослідницького інституту морського рибного господарства і океанографії, вул. Мечникова, 132, Одеса, 65028, Україна

РОЗПОДІЛ І РОЗМІРНО-ВІКОВИЙ СКЛАД ПРОМИСЛОВИХ СКУПЧЕНЬ ШПРОТУ ЧОРНОМОРСЬКОГО SPRATTUS SPRATTUS PHALERICUS (RISSO) (CLUPEIFORMES, CLUPEIDAE) У РАЙОНІ ДУНАЙ-ДНІСТРОВСЬКОГО МЕЖИРІЧЧЯ В 1998 – 2002 рр.

Представлено сучасний розподіл промислових скупчень шпроту чорноморського Sprattus sprattus phalericus (Risso) у районі Дунай-Дністровського межиріччя. Відзначено відмінності в розмірно - віковому складі шпроту з придунайського району і району Дністровської і Іллічівської банок.
Ключові слова: Дунай-Дністровське межиріччя, шпрот, скупчення, розмірно-віковий склад.

Шпрот чорноморський S. sprattus phalericus (Risso) – один із самих масових видів риб Чорного моря. Він має важливе промислове значення для України. По величині абсолютних уловів шпрот займає перше місце в морському промисловому рибальстві Азово-Чорноморського басейну (за рік виловлюється близько 50 тисяч тонн шпроту). На північно-західну частину Чорного моря випадає не менше 30% від загального вилову даного виду. Основний промисел тут ведеться у районі Дунай-Дністровського межиріччя.

У зв'язку з високою чисельністю шпрот займає важливе місце в харчовій мережі морської екосистеми, будучи об'єктом харчування коштовних промислових видів риб — камбали-калкана, акули-катрана, мерлана та ін. [1].

Для достовірної оцінки і прогнозування динаміки чисельності шпроту необхідні дані про стан виду у теперішній час. Тому метою наших досліджень було вивчення сучасного розподілу і деяких аспектів біології і екології шпроту в північно-західній частині Чорного моря.

Для досягнення поставленої мети в ході досліджень вирішувались наступні задачі:

— з'ясувати сезонний розподіл промислових скупчень шпроту в районі Дунай-Дністровського межиріччя за останні п'ять років;
— вивчити розмірно-віковий склад шпроту у цьому районі;
— визначити метеорологічні і гідрологічні умови, що впливають на промислові скупчення шпроту.

 © В. В. Заморов, С. М. Снігірьов, О. В. Сердюк, 2003

Матеріал і методи

Матеріал для наших досліджень зібрано у районі Дунай-Дністровського межиріччя в 1998 - 2002 роках. Протягом року вилов здійснювали з березня по листопад. Пошук промислових скупчень провадився за допомогою ехолота «Furuno» fcv-667. Шпрот виловлювали різноглибинним тралом № 24,6 з розміром чарунки в кутці тралу 6 мм. Матеріал відбирали в ході науково-дослідного і промислового лову на рибальських суднах типу МРТК, СЧС, РС. Щільність концентрацій шпроту оцінювали по величині вилову за годину тралення (кг/год.). Пробу риби (100 екземплярів) відбирали з кожного тралу, обробляли безпосередньо на судні, в результаті чого складали варіаційні ряди довжини риб (з розмірним класом у 5 мм). Кожну таку пробу заморожували для подальшої камеральної обробки. Враховували також показники температури води, напрямок і силу вітру, хмарність.

В лабораторії рибу піддавали повному біологічному аналізу: вимірювали довжину риби по Сміту (мм), масу риби (г), визначали стать, стадію зрілості гонад, бал наповнення кишечнику, відбирали отоліти риб.

Вік риб визначали по отолітах. Статистичну обробку даних здійснювали на персональному комп'ютері IBM PC з використанням пакету програм Statistica. Протягом досліджень оброблено і проаналізовано близько 20 тис. екземплярів шпроту.

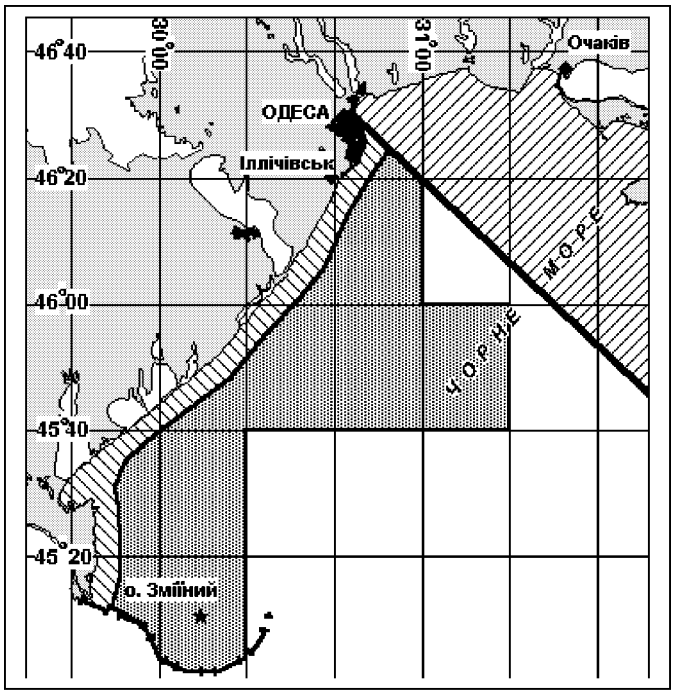
Результати досліджень

У період досліджень з 1998 по 2002 рік шпрот чорноморський утворював скупчення на всій акваторії Дунай-Дністровського межиріччя (рис. 1). Концентрації, що мають промислове значення, зафіксовані в районі Дністровської і Іллічівської банок («центральний район» 45°40'-46°20' п.ш. і 30°40'-31°20' с.д.), а також у придунайському районі біля острова Зміїний і в забороненому для тралового лову районі в прибережній зоні дунайського гирла (на захід від 30°00' с.д.). Протягом усього періоду досліджень чітко простежувався збіг районів промислу в різні сезони року. Виключення склав 2000 рік, коли шпрот утворював значні скупчення тільки в придунайському районі.

Необхідно відзначити, що величина уловів у районі о-ва Зміїний постійно була вищою в середньому на 20%, ніж у «центральному» районі. Ймовірно, розподіл скупчень шпроту в першу чергу залежить від зміни концентрацій кормових організмів у цих районах, що у свою чергу визначається динамікою стоків рік Дніпра, Дністра і Дунаю. Крім того, на утворення щільних скупчень шпроту впливає також глибина розташування термокліну, що необхідно враховувати при визначенні промислових концентрацій риби [9].

Середня величина уловів шпроту по сезонах за п'ять років досліджень істотно не змінювалася і складала навесні від 500 до 1000 кг/год., улітку – від 1000 до 2000 кг/год. і восени до 800 кг/год. Найбільші скупчення шпроту

(більш 2000 кг/год.) спостерігалися протягом літніх місяців під час його нагулу, коли риба утворює щільні придонні концентрації [3].



— зона щільних концентрацій шпроту

— зона, де лов не проводили

— зона заборонена для тралового лову

Рис. 1. Зона щільних концентрацій шпроту в районі Дунай-Дністровського межиріччя (1998 – 2002 рр.)

Утворення промислових скупчень у багатьох випадках залежить і від погодних умов [6, 7]. У першу чергу на щільність концентрацій косяків шпроту впливає температура води. Як холодолюбивий вид чорноморський шпрот віддає перевагу відносно низьким температурам води (від 4 – 6 до 12°С).

Не менш важливим чинником, що визначає величину скупчень, є освітленість [2]. Максимальні концентрації шпроту спостерігалися в тихі безхмарні дні, незалежно від місця і дати лову (рис. 2).

Протягом більшої частини року інтенсивність споживання корму шпротом була середньою і майже не змінювалася. Виключення складає нерестовий період, коли риба харчується значно менше. У плині доби риба активно харчується рано вранці і в сутінках [8]. Імовірно, у першу чергу це пов'яза-

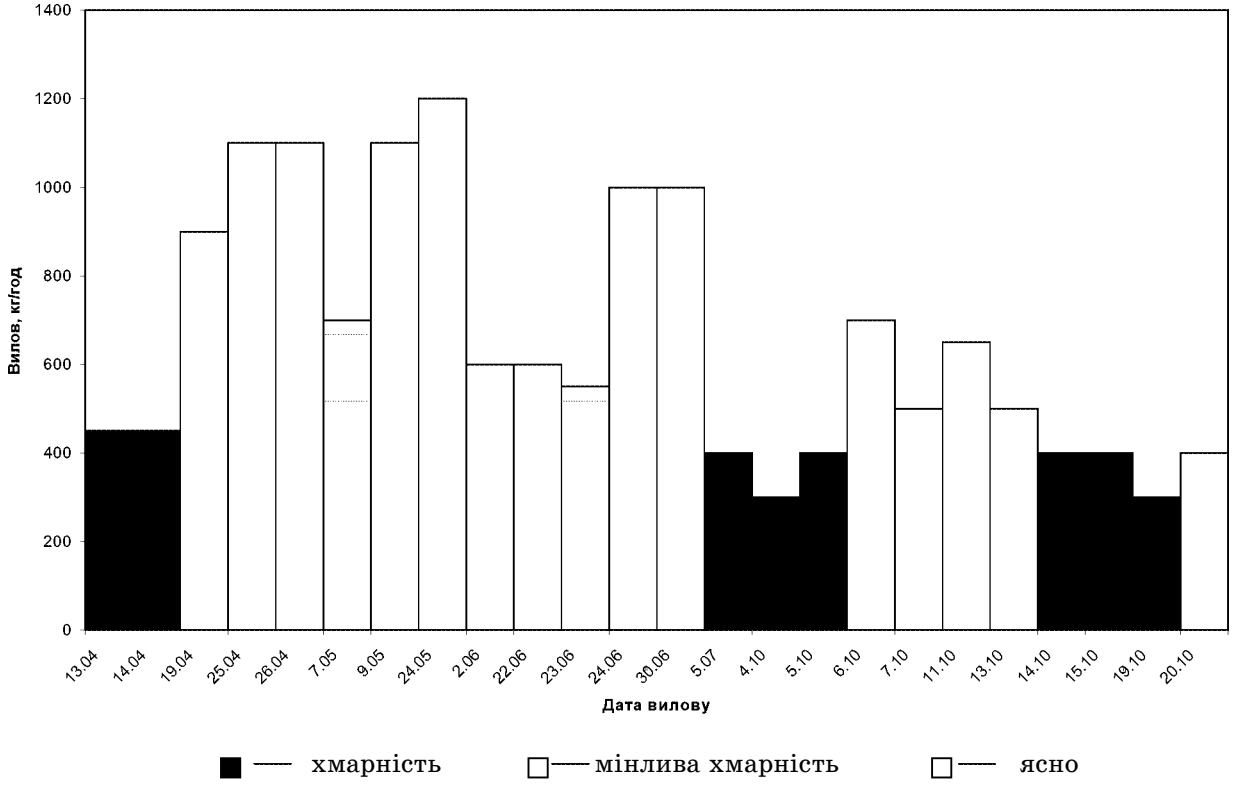


Рис. 2. Величина уловів шпроту (кг/год.) по днях при різних метеорологічних умовах у районі о. Зміїний (2002 рік)

но з добовими вертикальними міграціями кормових об'єктів. Від їх поводження багато в чому залежать і вертикальні міграції шпроту.

Згідно записів ехолота у світлий час доби шпрот, як правило, утворює придонні скупчення [10]. Ввечері і вночі у більшості випадків риба знаходиться на глибині не менш 8 – 10 м.

В цілому за весь період досліджень в Дунай-Дністровському межиріччі в уловах шпроту по чисельності домінували особини розміром 75 – 90 мм (до 50% улову). За розмірно-віковим складом шпроту найбільш вдалий матеріал було зібрано у 1999 році, коли в один і той же час науково-дослідні роботи проводили в різних районах лову. Нами виявлено, що в районі дунайського гирла шпрот був трохи крупніший в порівнянні з рибами інших районів. Тут домінували особини довжиною 85 – 95 мм, а частка великої риби (95 - 115 мм) більшу частину року на цій ділянці була на 10-15% більшою, ніж у виловах у «центральному районі» (табл. 1).

Таблиця 1

Розмірний склад шпроту (%), виловленого в «центральному» і в придунайському районах у 1999 році

Сезон лову	Район лову	Розмірний клас (мм)											Усього риб, екз.
		70	75	80	85	90	95	100	105	110	115		
Весна	«Центральний район»	8,5	34,0	30,0	19,0	7,0	1,5	-	-	-	-	-	200
	Придунайський район	5,0	12,0	10,0	14,0	27,0	15,0	7,3	3,3	2,0	2,5	1,9	150
Літо	«Центральний район»	25,0	37,0	11,0	8,0	3,0	7,0	5,0	1,0	3,0	-	-	100
	Придунайський район	-	5,0	4,0	14,0	28,0	20,0	17,0	7,0	-	3,0	2,0	100
Осінь	«Центральний район»	3,2	10,0	45,0	19,0	9,5	5,5	3,0	2,1	1,1	1,6	-	250
	Придунайський район	2,0	4,0	27,0	49,0	5,0	5,0	3,0	3,0	2,0	-	-	100

Ці відмінності в більшому чи меншому ступені спостерігалися і в інші роки проведення наших досліджень.

Незалежно від району лову і періоду досліджень в уловах переважали дволітки (близько 30%) і дворічки (більш 20%). Одновікові риби, виловлені в прибережній зоні дунайського гирла і біля острова Зміїний, мали трохи більші розміри, ніж особини Дністровської і Іллічівської банок (табл. 2).

Таблиця 2

Середня довжина (мм) одновікових особин шпроту, виловлених у «центральному» і придунайському районі у 1999 році

Сезон лову	Район лову	Вік рибин, роки			
		0+	1+	2+	3
Весна	«Центральний район»	61 ± 1,2 n= 28	70 ± 0,7 n= 46	85 ± 0,7 n= 34	90 ± 1,2 n= 22
	Придунайський район	60 ± 1,0 n= 15	72 ± 0,9 n= 26	84 ±1,1 n= 44	94 ± 0,3 n= 15
Літо	«Центральний район»	61 ± 0,8 n= 76	70 ± 0,9 n= 109	86 ± 0,8 n= 91	92 ± 0,9 n= 54
	Придунаиский район	67 ± 0,6 n= 67	77 ± 0,5 n= 114	90 ± 0,7 n= 102	98 ± 0,4 n= 67
Осінь	«Центральний район»	64 ± 0,5 n= 44	74 ± 1,0 n= 123	89 ± 1,3 n= 105	93 ± 1,0 n= 29
	Придунайський район	68 ± 0,6 n=115	84 ± 1,1 n= 135	90 ± 1,4 n= 73	100 ± 1,0 n= 27

Примітка: n – кількість особин, екз.

Таку відмінність у першу чергу можна пояснити тим, що в районі дії могутнього стоку Дністра і Дунаю утворюються більш сприятливі умови для формування кормової бази, при якій риба зростає швидше. Крім цього, подібні відмінності певною мірою можуть пояснюватися належністю риб придунайського району і «центрального району» до двох різних популяцій.

На можливість існування у північно-західній частині Чорного моря декількох угруповань шпроту, що можуть належати до різних популяцій, раніше вказували Г. В. Зуєв, А. Р. Болтачов, Д. К. Гуцал [4], Г. В.Зуєв, А. В. Гаєвська та ін. [5].

Для остаточної відповіді на це запитання слід провести біохімічні та молекулярнобіологічні дослідження.

Висновки

1. У 1998 – 2002 роках шпрот чорноморський утворював стабільні промислові скупчення (від 500 до 2000 кг/год.) у придунайському районі, а також на Дністровській і Іллічівській банках.

2. Максимальні вилови шпроту — понад 2 тони за годину тралування зареєстровані в літні місяці в придунайському районі (45°00'-45°40'п.ш. і 29°50'-30°20'с.д.).

3. Незалежно від району і сезону промислу, найбільші вилови шпроту відзначались у безхмарні дні.

4. Протягом усього періоду досліджень у Дунай-Дністровському межиріччі в виловах шпроту переважали особини довжиною 75-90 мм (до 50% вилову). Ці риби були віком дволіток (30%) та дворічок (20%).

5. Відзначено, що у придунайському районі особини шпроту були крупнішими, ніж риба інших районів.

6. Виявлені відмінності в розмірно-віковому складі шпроту з придунайського району і «центрального району» дають підстави вважати, що в районі Дунай-Дністровського межиріччя існує дві популяцій даного виду.

Автори статті щиро дякують директора ТОВ "Міжнародний бізнес-клуб" Бойкова О. С. за надану допомогу при зборі матеріалу.

Література

1. *Алеев Ю. Г.* О биологии и хозяйственном значении черноморского шпрота (Sprattus sprattus phalericus). — М.: Ан СССР, 1958. — Т. 10. — С. 90 – 108.
2. *Асланова Н. Е.* Шпрот Черного моря//Труды ВНИРО.- 1954.- Т. 28. - С. 75-101.
3. *Долбиш В. С.* К вопросу о структуре скоплений черноморского шпрота//Рыбное хозяйство.- 1980.- Вып.3.- С. 5-15.
4. *Зуев Г. В., Болтачев А. Р., Гуцал Д. К.* Эколого-географический подход к изучению внутривидовой структуры шпрота в северо-западной части Черного моря // Экология моря. — 2000. — Вип. 50. — С. 8 – 15.
5. *Зуев Г. В., Гаевская А. В., Корнейчук Ю. М., Болтачев А. Р.* О внутривидовой дифференциации черноморского шпрота у побережья Крыма//Экология моря.- 1999. — Вип. 49. — С. 10 – 16.
6. *Старушенко Л. И.* О возрастном составе промыслового стада черноморского шпрота и причинах колебаний его численности//Рыбное хозяйство. — 1965. — Т. 5. — С. 21 - 35.
7. *Старушенко Л. И.* Новые данные о биологии и динамике численности черноморского шпрота. — М.: Наука, 1968. — С. 178 – 183.
8. *Чаянова Л. А.* Питание черноморского шпрота. // Труды ВНИРО. — 1958. — Вип. 36. — С. 106 – 127.
9. *Юрьев Г. С.* Динамика численности черноморского шпрота и методика прогнозирования возможного улова. — М.: ВНИРО, 1970. — 395 с.
10. Юрьев Г. С. Биология, оценка запасов и перспективы промысла черноморского шпрота (Sprattus sprattus phalericus (Risso)). — Диссертация на соискание научной степени кандидата биологических наук. — Керчь, 1978. – 172 с.

В. В. Заморов[1], С. М. Снигирев[2] , О. В. Сердюк[2]
[1] Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра гидробиологии и общей экологии, ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина
[2]Одо ЮгНИРО, ул. Мечникова, 132, Одесса, 65028, Украина

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И РАЗМЕРНО-ВОЗРАСТНОЙ СОСТАВ ПРОМЫСЛОВЫХ СКОПЛЕНИЙ ШПРОТА ЧЕРНОМОРСКОГО SPRATTUS SPRATTUS PHALERICUS (RISSO) (CLUPEIFORMES, CLUPEIDAE) В РАЙОНЕ ДУНАЙ-ДНЕСТРОВСКОГО МЕЖДУРЕЧЬЯ В 1998-2002 ГГ.

Резюме

Представленно современное распределение промысловых скоплений шпрота черноморского Sprattus sprattus phalericus (Risso) в районе Дунай-Днестровского междуречья. Отмечены отличия в размерно-возрастном составе шпрота из придунайского района и района Днестровской и Ильичевской банок.

Ключевые слова: Дунай-Днестровское междуречье, шпрот, скопление, размерно-возрастной состав.

V. V. Zamorov[1], S. M. Snigiryov[2], O. V. Serduk[2]
[1]Odessa National I. I. Mechnikov University,
Departament of Hydrobiology and General Ecology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine
[2]YugNIRO, Mechnicova St., 132, Odessa, 65028, Ukraine

DISTRIBUTION AND DIMENTION AGE STRUCTURE OF BRISLINGS SPRATTUS SPRATTUS PHALERICUS (RISSO) (CLUPEIFORMES, CLUPEIDAE) AMASSMENT BETWEEN THE DANUBE RIVER AND THE DNESTER RIVER

Summary

This article presents modern distribution of Sprattus sprattus phalericus (Risso) amassment between the Danube River and the Dnester River.

Dimension age differences in structure of brislings have been noted in two different regions, the Danube region and the central region.

Key words: Region between the Danube River and the Dnester River, brisling, amass, dimention age structure.

УДК 595.324

А. Г. Петросян[1], ст. научн. сотр., канд. биол. наук, **А. В. Кошелев**, асп. [1], **С. Е. Дятлов**[2], канд. биол. наук, докторант каф. гидробиологии и общей экологии
[1] Одесский филиал Института биологии южных морей НАН Украины, отдел проблем качества водной среды,
ул. Пушкинская, 37, Одесса, 65011, Украина.
[2] Одесский национальний университет,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина.

БИОЛОГИЯ И ОСОБЕННОСТИ ЛАБОРАТОРНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *WLASSICSIA PANNONICA* DADAY (CRUSTACEA, CLADOCERA)

Введен в лабораторную культуру представитель бентопланктонных ветвистоусых ракообразных *W. pannonica*. Приведены морфометрические и репродуктивные характеристики вида, а также условия оптимального культивирования партеногенетических самок. *W. pannonica* предложена в качестве перспективного тест-объекта для биотестирования донных отложений.
Ключевые слова: *Wlassicsia pannonica*, эфиппии, донные отложения, культивирование.

В настоящее время десятки видов беспозвоночных используются для биотестирования природных и сточных вод. Однако, при всем многообразии тест-объектов чаще всего в качестве тест-организмов применяются ветвистоусые ракообразные, в частности представители родов Daphnia и Ceriodaphnia. К сожалению, практически отсутствуют биотесты с использованием бентосных ветвистоусых ракообразных, удобных для биотестирования донных отложений.

W. pannonica – единственный представитель рода Wlassicsia в Восточном полушарии, она описана для водоемов центральной Европы и средней Азии [1, 2]. Наряду с другими тест-объектами, *W. pannonica* была использована при проведении токсикологических исследований донных отложений в дельте р. Дунай [3]. Л. П. Брагинский [4] определил *W. pannonica* как специфический донный вид ветвистоусых ракообразных, перспективный для оценки токсичности вытяжек из донных отложений.

Целью данной работы было изучение биологии и особенностей лабораторного культивирования бентопланктонной клядоцеры *W. pannonica*, перспективного вида для биотестирования донных отложений.

Задачи исследования включали изучение жизненного цикла *W. pannonica*, анализ влияния абиотических факторов среды на указанный вид, а также подбор оптимальных условий для культивирования его представителей в лаборатории.

 © А. Г. Петросян, А. В. Кошелев, С. Е. Дятлов, 2003

Материал и методы

Эфиппии *W. pannonica* имеют характерный красновато-коричневый цвет и обладают двумя (реже – одним) пигментированными яйцами. Материал был собран в зоне заплеска на берегу причерноморского Дофиновского лимана в марте 2002 г. В доступной литературе нет описания эфиппиев *W. pannonica*, поэтому идентифицировать этого пресноводного ветвистоусого рачка удалось только после появления молоди в условиях лаборатории [1]: отряд Cladocera; сем. Macrothricidae Norman et Brady, 1867; п/сем. Macrothricinae N.N. Smirnov subf.n.; род Wlassicsia Daday, 1904, *Wlassicsia pannonica* Daday, 1904 (рис. 1).

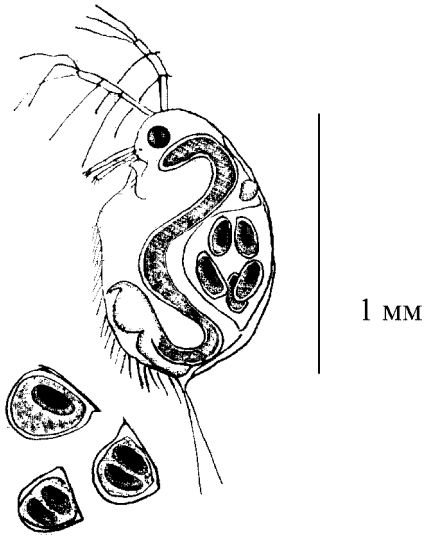


Рис. 1. Партеногенетическая самка и эфиппии *Wlassicsia pannonica* Daday, 1904 (ориг. рис.)

Необходимым условием дружного выхода молоди из эфиппиев является промораживание их в холодильнике при температуре –12°С в течение нескольких суток, после чего эфиппии помещали в стаканы с отстоянной водопроводной водой. Через несколько суток появлялись ювенильные особи *W. pannonica*, которые и стали исходным материалом для лабораторной культуры.

Исследования особенностей биологии *W. pannonica* в лабораторных условиях включали:

1. Изучение продолжительности жизни партеногенетических самок, их репродуктивные и морфометрические характеристики. Исследование выполнено в чашках Петри объемом 40 мл, куда помещали по 1 – 3 экземпляра новорожденной молоди от исходных самок. Чашки просматривали дважды в день, нарождающуюся молодь подсчитывали и отсаживали, заме-

ры проводили при помощи бинокулярного микроскопа МБС-9 и окуляр-микрометра х8.

2. Изучение влияния широкого диапазона температур на продолжительность жизни, плодовитость и морфометрические характеристики *W. pannonica*.

3. Определение выживаемости ювенильных особей и взрослых самок в условиях повышенной (1 – 5 г/л) минерализации среды.

4. Определение оптимального объема культивационных сосудов и режима кормления *W. pannonica* в лимитированных объемах (40 – 200 мл) среды. Исследование прироста лабораторной популяции в условиях различной пищевой обеспеченности.

5. Изучение влияния продуктов жизнедеятельности "старой" культуры или так называемой "воды скоплений" на среднюю продолжительность жизни, репродуктивные показатели и образование эфиппиев у самок. Эксперимент продолжительностью 12 сут выполнен в трех вариантах в 100 мл стаканчиках, куда были помещены по 3 исходные половозрелые самки *W. pannonica*. При смене среды в стаканы добавляли кормовой концентрат (смесь суспензии сухих пекарских дрожжей и культур зеленых водорослей *Chlorella vulgaris* Beijer и *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb., выращенных на среде Пратта).

Рост лабораторных микропопуляций *W. pannonica* при различных условиях культивирования оценивали по показателям относительного прироста. К таким показателям относятся коэффициент суточного роста K_g ($K_g = N_o/N_i$, где N_o – численность исходных самок в микропопуляции, N_i – численность молоди, полученной от исходных самок на соответствующие сутки экспозиции) и биомасса популяции (B_5), рассчитанная как произведение средней длины тела самок, приступивших к размножению (L), на коэффициент относительного прироста популяции на 5-е сут экспозиции (K_g). При расчете биомассы микропопуляции допускается, что длина тела самки – величина, пропорциональная массе ее тела.

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили с помощью общепринятых статистических методов [5].

Результаты исследований

Появление эфиппиев аборигенного дунайского вида *W. pannonica* на берегу приморского лимана до сих пор до конца не объяснено. Мы рассматриваем два возможных варианта: разовый перенос эфиппиев птицами, что является признаком случайности данной находки, или образование ранней весной в районе лиманской пересыпи временных водоемов дождевого происхождения, где жизнь из покоящихся стадий ракообразных быстро появляется и также быстро исчезает, не попадая в поле зрения исследователей.

Экологическая ниша *W. pannonica* весьма стационарна, т. е. приурочена к мелководному заиленному участку пресноводного водоема со специфическим комплексом температурных и гидрохимических особенностей.

W. pannonica малоподвижна, держится у дна вентральной стороной вниз, изредка совершая скачкообразные движения в толщу воды. Она активно фильтрует планктонные водоросли, бактериальную взвесь и илистые частицы детрита торакальными конечностями, при этом антенны II расправлены в стороны.

Как и все ветвистоусые ракообразные, представители *W. pannonica* раздельнополы, для них характерны чередование однополого (партеногенетического) и полового размножения. Пересыхание пресноводных луж на берегу соленого и мелководного Дофиновского лимана могло приводить к исчезновению благоприятных условий для партеногенетического развития *W. pannonica*, появлению в популяции самцов, переходу на половой тип размножения и, как следствие, появлению эфиппиев в береговых выбросах, одинаково хорошо переносящих промораживание зимой и пересыхание летом.

Молодь, вышедшая из эфиппиев, способна к партеногенетическому размножению. Число партеногенетических поколений у *W. pannonica* варьирует, так как изменение любого фактора (температуры, освещенности, количества пищи, концентрации кислорода, повышение минерализации воды, плотности популяции в ограниченном объеме воды и др.) может привести к появлению самцов и эфиппиальных самок. Это обстоятельство характеризует *W. pannonica* в естественных местообитаниях как полициклический вид.

Лабораторное культивирование ветвистоусых ракообразных предполагает подавление полового периода в развитии полициклической популяции *W. pannonica* за счет установления стандартных условий. В зависимости от условий культивирования средняя продолжительность жизни, плодовитость, линейные размеры, а также количество партеногенетических поколений у самок могут значительно изменяться (табл. 1).

Таблица 1

Средние показатели репродуктивности и морфометрии самок *W. pannonica* в зависимости от температуры культивирования

T °C	Плодовитость самок в пометах, экз.					Плодовитость самок в онтогенезе, экз.	Продолжительность жизни самок, сут.	Длина новорожденной молоди, мм	Длина самок, приступивших к размножению, мм
	I*	II	III	IV	V				
12-15	5,3	15,2	20,1	18,7	12,9	72,2	16	0,20	1,25
20-22	6,6	17,3	25,5	24,7	-	74,1	15	0,25	1,10
25-28	8,4	28,6	29,7	26,7	-	93,4	10	0,30	0,83

Примечание: * – I – V пометы в онтогенезе самок

При температуре 25 – 28°С молодь созревала на 3 – 4-е сутки, признаком чего являлось опускание в выводковую камеру зеленых яиц, превращающихся на пятые сутки в развитые эмбрионы. Появление первого помета происходило на пятые сутки. Снижение температуры культивирования приводило к удлинению продолжительности жизни и сроков созревания самок, увеличению паузы между пометами. Средняя плодовитость самок при этом снижалась, несмотря на увеличение количества пометов в онтогенезе. После окончания очередного помета новая порция яиц опускалась в выводковую камеру через 1 – 2 часа.

Снижение температуры до 12°С приводило к появлению самцов в лабораторной культуре и образованию эфиппиев у самок.

Важную роль в создании оптимальных условий культивирования имеет кормление ракообразных. Для *W. pannonica* наиболее высокие показатели роста микропопуляции были получены при однократном внесении смеси культур зеленых водорослей *Chlorella vulgaris* и *Scenedesmus quadricauda* (1,0 – 1,2$_*$10^6 кл/мл), выращенных на питательной среде Пратта, и ежедневном внесении 1 капли суспензии пекарских дрожжей в расчете на 100 мл культуральной среды.

В табл. 2 – 3 приведен пример влияния количества корма на плодовитость самок и показатель относительного прироста численности особей ($К_g$) *W. pannonica* в микропопуляциях при температуре 20 ±2 °С и объеме среды культивирования 100 мл. Наблюдения за размножением взрослых самок охватывали период от момента получения молоди у самок до созревания этой молоди и не превышали пяти суток. Установлена прямая зависимость между пищевой обеспеченностью, приростом численности и биомассы особей в лабораторных микропопуляциях даже в течение ограниченного времени наблюдений, охватывающего период полового созревания одного поколения.

Таблица 2

Рост численности молоди в микропопуляции *W. pannonica* в течение 5-и сут при различной пищевой обеспеченности

Численность клеток водорослей, n$_*$10^6 кл/мл	Численность молоди *W. pannonica*, экз				
	*1**	*2*	*3*	*4*	*5*
1,0 – 1,2	—	43	74	93	146
0,5 – 0,6	—	57	68	109	130
0,1 – 0,2	—	40	51	80**	92**

Примечание: * – 1 – 5 – сутки экспозиции

** – появление в культуре эфиппиальных самок

Таблица 3

Относительный прирост численности ($К_g$) и биомассы ($В_5$) микропопуляции *W. pannonica* в течение 5-и сут при различной пищевой обеспеченности

Численность клеток водорослей, n_*10^6 кл/мл	$К_g$					$В_5$, у.е.
	*1**	*2*	*3*	*4*	*5*	
1,0 – 1,2	—	15,3	25,7	32,0	49,7	54,64
0,5 – 0,6	—	20,0	23,7	37,3	44,3	48,76
0,1 – 0,2	—	14,3	18,0	27,3	31,3	34,46

Примечание: * – 1 – 5 – сутки экспозиции
** – появление в культуре эфиппиальных самок

Максимальные значения показателей относительного прироста численности особей ($К_g$) и биомассы ($В_5$) свидетельствуют о наиболее оптимальных условиях кормления при исходной численности внесенных водорослей в среду культивирования $1,0 - 1,2_*10^6$ кл/мл. Обращает на себя внимание появление в эксперименте эфиппиальных самок при ограниченном рационе.

Предварительный эксперимент (пять повторностей), поставленный при температуре 20 ±2 °С для определения оптимального объема культуральной среды, показал, что достоверных различий между численностью микропопуляции, выращиваемой в объеме 40, 100 и 200 мл, при плотности однократно внесенного водорослевого корма $1,0 - 1,2_*10^6$ кл/мл, нет. При дальнейших расчетах микропопуляции, выращиваемые в сосудах вместимостью 40 мл, расценивались как контрольные (табл. 4).

Таблица 4

Прирост численности (N) и биомассы ($В_5$) популяции *W. pannonica* при различных объемах культуральной среды

Объем среды, мл	Показатели роста культуры	Сутки наблюдения					$В_5$, у.е.
		1	2	3	4	5	
40	N, экз	3,0±0,0	41,8±2,8	73,2±5,8	91,8±7,5	145,8±9,9	53,46
	%	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	
	$К_g$	—	13,9	24,4	30,6	48,6	
100	N, экз	3,0±0,0	42,6±3,6	70,8±11,4	92,0±15,6	138,2±19,4	50,71
	%	100,0	101,9	96,7	100,2	94,8	
	t_{st}	—	0,06	0,10	0,01	0,16	
	$К_g$	—	14,2	23,6	30,7	46,1	
200	N, экз	3,0±0,0	41,4±5,7	78,6±8,9	95,8±18,3	141,0±12,1	51,70
	%	100,0	99,0	107,4	104,4	96,7	
	t_{st}	—	0,03	0,21	0,13	0,10	
	$К_g$		13,8	26,5	31,9	47,0	

Видно, что объем культивационного сосуда не является определяющим фактором для роста культуры, или, что кажется более вероятным, для получения достоверных различий наблюдения должны охватывать несколько поколений рачков.

Продолжением эксперимента по подбору оптимальных условий культивирования *W. pannonica* явились наблюдения за состоянием лабораторной микропопуляции в ограниченном объеме среды под влиянием продуктов жизнедеятельности, содержащихся в "старой" воде (табл. 5). При объеме культуральных сосудов 100 мл, температуре 22 ±2 °С и равной во всех трех вариантах обеспеченности кормовым концентратом, суммарная численность культуры, развивающейся в "старой" среде, через 12 сут была выше, чем в культуре, где часть или весь объем среды трижды в ходе 12-и суточного эксперимента заменяли на свежую. Количество эфиппиев по окончании эксперимента также было выше в первом варианте. Средняя продолжительность жизни самок при этом была выше в свежей воде (третий вариант).

Таблица 5

Влияние продуктов жизнедеятельности на показатели репродуктивной способности самок (средние значения) и образование эфиппиев

Варианты эксперимента	Плодовитость, экз.	Средняя продолжительность жизни, сут	Эфиппии, экз.
1. «Старая» среда	1195	12	46
2. Замена ½ объема среды	978	14	25
3. Замена всего объема среды	1019	15	12

Под влиянием "воды скоплений" происходит уменьшение продолжительности жизни самок и увеличивается количество молоди в пометах, повышается вероятность появления самцов. Следовательно, при длительном лабораторном содержании культур *W. pannonica* необходимо регулярно заменять часть "старой" воды на свежую, чтобы избежать высокой плотности культур (>1200 экз./100 мл) и появления эфиппиальных самок.

W. pannonica, также как и другие представители ветвистоусых ракообразных (*Daphnia, Moina* и *Ceriodaphnia*), могут образовывать несколько эфиппиев в течение жизни. Если появившихся при субоптимальных условиях культивирования эфиппиальных самок перенести в оптимальные условия, эфиппии сбрасываются, через трое суток появляются яйца, на 4-е сутки – эмбрионы. К размножению самки приступают на пятые сутки после потери эфиппий. Учитывая то, что в лабораторных условиях культура *W. pannonica*, полученная из одного эфиппия, развивалась партеногенетически более шести месяцев, а появление эфиппиальных самок было эпизодическим и единичным, можно считать, что условия культивирования были благоприятными и оптимальными (табл. 6).

Таблица 6

Диапазон оптимальных и субоптимальных условий культивирования W. pannonica

Параметры среды	Условия культивирования	
	Оптимальные	Субоптимальные
T, °C	16 – 25	< 16; > 26
Освещенность, лк	>1000	< 1000
Минерализация, г/л	< 1,0	1,0 – 5,0
O_2, мг/л	> 2,0	<2,0
Обеспеченность кормом, кл/мл	$1,0 – 1,2 * 10^6$	$< 0,2 * 10^6$
Плотность посадки, экз/100 мл	< 1000	>1200
Объем культиваторов, мл	40 – 200	< 20
Смена среды культивирования	1 раз в 3 дня	Нет

Если после выхода из эфиппиев ювенильные особи были помещены в субоптимальные условия среды, не благоприятные для партеногенетического размножения, однако не грозящие выживанию *W. pannonica* как вида, это приводило к учащению образования эфиппиев.

Короткий жизненный цикл, высокая плодовитость, широкий диапазон оптимальных условий культивирования позволяют считать *W. pannonica* пригодным для длительного лабораторного культивирования. Условия лабораторного культивирования *W. pannonica* близки к стандартным, обозначенным рядом национальных и международных документов для ветвистоусых ракообразных, используемых при оценке токсичности водных сред. Особенности биологии *W. pannonica* позволяют рассматривать этот вид как наиболее пригодный для биотестирования донных отложений пресноводых водоемов.

Литература

1. Смирнов Н.Н. Macrothricidae и Moinidae фауны мира. Фауна СССР. Ракообразные. – Т.1, вып. 3. – Л.: Изд-во Наука, 1976. – 237 с.
2. Hudec I. On *Wlassicsia pannonica* Daday 1904 (Crustacea, Cladocera) in Slovakia. Biologia-Bratislava. – 1983. –V. 38, №. 6. – P. 543 – 547.
3. Щербань Э.П., Арсан О.М., Шаповал Т.Н. и др. Методика получения водных вытяжек из донных отложений для их биотестирования // Гидробиол. журн. – 1994. – Т. 30, № 4. – С. 100 – 111.
4. Брагинский Л.П. Методологические аспекты токсикологического биотестирования на *Daphnia magna* Str. и других ветвистоусых ракообразных (критический обзор) // Гидробиол. журн. – 2000. – Т. 36, № 5. – С. 50 – 70.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия - М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.

А. Г. Петросян[1], О. В. Кошелев, С. Є. Дятлов[2]
[1]Одеський філіал Інституту біології південних морів НАН України, відділ проблем якості водного середовища,
вул. Пушкінська, 37, Одеса, 65011, Україна.

[2] Одеський національний університет,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна.

БІОЛОГІЯ ТА ОСОБЛИВОСТІ ЛАБОРАТОРНОГО КУЛЬТИВУВАННЯ *WLASSICSIA PANNONICA* DADAY (CRUSTACEA, CLADOCERA)

Резюме

Наведено дані про біологию та лабораторне утримання бентопланктонного гіллястовусого ракоподібного *Wlassicsia pannonica*. Описано життєвий цикл *W. pannonica,* який включає стадії ефіпіїв, ювенильних особин та партеногенетичних самок з середньою плодючостю 74,1 особини при 21°С. Онтогенез *W. pannonicam* триває 10-16 діб, за цей час самки 4-5 разів приносять нащадків. З'ясовано оптимальні умови лабораторного культивування, що відповідають максимальним показникам плодючості та відносного приросту лабораторної мікропопуляції.

Ключові слова: *Wlassicsia pannonica*, ефіпії, донні відклади, культивування.

A. G. Petrosyan[1], A. V. Koshelev[1], S. Ye. Dyatlov[2]
[1] Odessa Branch, Institute of Biology of Southern Seas,
National Academy of Science of Ukraine,
Pushkinskaya str. 37, Odessa, 65011, Ukraine

[2] Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Hydrobiology and General Ecology,
Dvoryanskaya str., 2, Odessa, 65026, Ukraine

BIOLOGY AND SPECIAL FEATURES OF LABORATORY CULTIVATION OF *WLASSICSIA PANNONICA* DADAY (CRUSTACEA, CLADOCERA)

Summary

Data about biology and laboratory keeping of benthic Cladocera *Wlassicsia pannonica* are given. It is described the life cycle of *W. pannonica* with stages of ephipia, juvenile individuals and parthenogenetic females with average prolificacy of 74,1 sp. at 21 °C . The ontogenesis of *W. pannonica* lasts 10-16 days. During this period females have 4-5 litters. The optimum conditions of the laboratory cultivation that correspond to maximum indices of prolificacy and comparative growth of laboratory micropopulation are given.

Key words: *Wlassicsia pannonica*, ephipia, bottom sediments, cultivation

ЕКОЛОГІЯ

УДК 502.7(477-4)

В. П. Стойловский, канд. биол. наук, доц.
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра зоологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИНВЕНТАРИЗАЦИИ ВОДНО-БОЛОТНЫХ УГОДИЙ УКРАИНЫ

В работе сделан анализ методических подходов к инвентаризации водно-болотных угодий мира. Рассмотрены наиболее адаптированные методики, использованные в Украине в ходе инвентаризационных работ.
Ключевые слова: водно-болотные угодья, ресурсы, инвентаризация

В течение 50-х годов XX века стало очевидным, что существовавшая в то время международная система национальных парков и других эквивалентных природоохранных территорий, расположенных по всему миру для сохранения биологического разнообразия и важных мест обитаний, в том числе и водно-болотных экосистем, в большинстве своем не смогла обеспечить реальной охраны уникальных природных комплексов. Неопровержимым фактом можно считать и то, что многие важные природные комплексы были доведены до кризисного состояния в результате антропогенного вторжения. Дренажирование, отдамбовывание, загрязнения и другие формы деятельности приводили к деградации данных экосистем.

Исходя из оценки ситуации, которая сложилась в природоохранном деле, возникла необходимость идентифицировать новые территории (в том числе водно-болотные угодья (ВБУ)), которые представляют интерес как для современной науки, так и с точки зрения сохранения для будущих поколений. Речь идет, прежде всего, о необходимости составления перечня водно-болотных угодий, имеющих международное значение. Наиболее рациональным представляется проведение таких мероприятий в рамках конкретных стран, чтобы на национальном уровне можно было реализовывать необходимые меры по их сохранению и рациональному использованию.

Первоначально опыт инвентаризации ВБУ отсутствовал, поэтому в последние 40-50 лет в разных странах использовались свои, часто уникальные (и поэтому несопоставимые с другими) схемы инвентаризации. В этих схемах определены приоритеты и последовательность действий при работе в ВБУ международного значения в конкретных условиях. Однако в настоящее время механизмы инвентаризации практически полностью определены и согласованы в большинстве стран [1].

Инвентаризация включает широкий спектр возможностей в плане глубины и ширины исследований параметров ВБУ, начиная с составления про-

© В. П. Стойловский, 2003

стого их перечня до детального описания, с определением приоритетов рационального использования ресурсов и разработки схемы эффективной охраны.

Инвентаризация ВБУ и их ресурсов крайне необходима для определения и выбора приоритетов при решении вопросов сохранения и менеджмента ВБУ, а также для успешной интеграции интересов охраны в систему планирования водо- и землепользования.

Инвентаризация обеспечивает базу для исследований ресурсов в рамках локального, национального и международного уровней, позволяет оценивать степень антропогенной активности на определенной территории, а также показывает эффективность и богатство ресурсов ВБУ. К тому же, результаты инвентаризации могут быть использованы в мониторинговых исследованиях, фиксирующих изменения физических и экологических характеристик ВБУ.

В широком смысле слова инвентаризация – это составление перечня ВБУ, по которым имеются минимальные данные, характеризующие их расположение, размеры, современные физические и биологические особенности, антропогенные нагрузки, природоохранный статус и др.

При проведении инвентаризационных работ необходимо четко обозначать цели, которые должны быть достигнуты за определенный период времени или в ходе выполнения определенного проекта. Конечная цель работы – публикация информации, полученной в ходе проведения исследований или подготовка легкодоступной системы базы данных.

Предварительно, перед началом инвентаризации, необходимо четко знать, что собой представляют ВБУ, что определяет их размеры, насколько разнообразны местообитания на их территории, как точно они укладываются в существующие системы классификаций и какое минимальное количество водно-болотных угодий необходимо проанализировать, чтобы получить достоверные данные.

Украина чрезвычайно богата ВБУ, которые своим происхождением связаны с реками, озерами, прудами, водохранилищами, солеными озерами, болотами, торфяниками, многочисленными пойменными долинами и лесами. ВБУ составляют около 5,3 % территории страны, 3,8 % из которых составляют заливные луга [2].

В процессе идентификации ВБУ как местообитаний с высокой экологической ценностью в бассейне Черного моря в первую очередь анализировали тростниковые ассоциации, покрытые лесом пойменные берега рек, внутренние озера и лагуны, лиманы, дельты, морские заливы, песчаные и галечные косы, искусственные водоемы, рисовые чеки и др.

Оценивая практику проведения ВБУ в Европейских странах нами установлено, что наиболее приемлемым в наших условиях является опыт стран средиземноморского бассейна [1, 3, 4], где особое внимание уделялось требованиям Рамсарской Конвенции [5] при проведении подобных работ. Они

заключались, в основном, в том, что процесс инвентаризации основывается на допущении использования разнокачественной информации при описании ВБУ в различных регионах страны. Общепринятая стандартность подходов, использованная нами в Украине, сохраняла и определенную гибкость, допускающую анализ различных ресурсных уровней и различные фазы при проведении инвентаризации, а также различный уровень ее детализации.

Вместе с тем гибкость не следует смешивать с возможностью изменения ключевой составляющей методики, которая может способствовать потере стандартизации.

Схема проведения предварительной инвентаризации ВБУ Украины была подготовлена с учетом ее биогеографического расположения и громадных размеров страны.

Оценка научно-экспертных ресурсов страны и особенностей административно-территориального распределения показала необходимость формирования пяти субрегионов Украины (центр, запад, север, восток, юг).

Пространственно-территориальная структура процесса самой инвентаризации основывалась на трех иерархических уровнях, определяющих фазы проведения инвентаризации:

Первая фаза — изучение и обработка имеющейся информации. Компиляция имеющихся данных, касающихся описываемой территории, использование всех доступных источников информации (библиография, карты, базы данных и т. д.). Это нужно предпринимать перед сбором новых данных и не требует полевых работ.

Вторая фаза — простая инвентаризация: производится компиляция дополнительной информации, касающейся всех территорий идентифицированных на первой фазе, но с более высоким уровнем детализации, включая, по крайней мере, эскизы (схемы) карт по каждой территории, плюс сбор информации по новым территориям. На этой стадии инвентаризации могут потребоваться незначительные ресурсы для проведения некоторых полевых исследований.

Третья фаза (детальная инвентаризация). На этой стадии производится достаточно детальная компиляция по каждой территории. Готовятся высокоточные карты, лучше всего с использованием ГИС[1]-технологий. На этой фазе наиболее важным является описание и оценка территорий, имеющих природоохранное значение, а также оценка уровня общественного мнения на предмет сохранения важных территорий. Работы, проводимые на этой стадии, требуют интенсивных полевых исследований и значительных ресурсов. Результаты, полученные на этой стадии, особенно важны для локального менеджмента, обеспечения информацией для перспективного планирования и осуществления мониторинга.

Особое внимание при инвентаризации уделяют пяти главным компонентам [4]:

[1] ГИС — геоинформационная система.

Выбор территории: определяющие критерии, которые используются при выборе ВБУ для инвентаризации, основываются на ценности и разнообразии местообитаний участка.

Идентификация водно-болотного угодья: при идентификации ВБУ необходимо использовать такие критерии, которые позволят разграничить одно ВБУот другого.

Система классификации: система классификации, которую использовали при описании типов ВБУ Украины и структур их местообитаний наиболее полно отражает ключевые характеристики объектов инвентаризации. В работе в основном использовали классификации Рамсарской конвенции, которая построена на принципах иерархической соподчиненности объектов.

Картирование является важной составляющей, венчающей процесс инвентаризации. В результате картирования очерчиваются предварительные границы ВБУ, которые должны соотносится с параметрами используемой системой классификации.

Названные компоненты, используемые при инвентаризации водно-болотных угодий, обеспечивают сохранение основы стандартных методов.

Результаты исследований и их анализ

Результаты предварительной инвентаризации ВБУ Украины (табл. 1) показывают, что наиболее изученными являются угодья, расположенные в Волынской, Киевской, Полтавской, Луганской и Одесской областях и в Крыму [6].

На этих территориях приходится 50 % угодий из 182 описанных. Необходимо отметить, что около 50 % проинвентаризированных угодий страны являются объектами местного значения, остальные имеют ранг международного и национального значения. Высокий уровень ценности ВБУ Украины позволит в будущем расширить список угодий (табл. 2), имеющих международное значение.

Наиболее полное представление о ценности и о соответствии международным критериям получено нами по ВБУ Одесской области. Мощный научный потенциал региона и исторически длительный интерес к ВБУ определили возможность изучить практически весь комплекс ВБУ региона. В связи с этим наибольшее количество ВБУ международного значения описано именно здесь. Из 22 двух ВБУ международного значения — 8 находятся в Одесской области. В каждом из ВБУ Одесской области имеется действующий или перспективный природно-заповедный объект, который в рамках региональной программы Экология 2000 – 2005 гг. будет обустроен в указанный период.

Таким образом, в ближайшее время природно-заповедный фонд Одесской области может быть значительно расширен за счет наиболее ценных участков ВБУ международного и национального значения.

Таблица 1

Результаты предварительной инвентаризации ВБУ в Украине

Области	Региональные		Национальные		Международные		Всего	
	кол-во	площадь (га)	кол-во	площадь (га)	кол-во	площадь (га)	кол-во	площадь (га)
Закарпатская	1	394	1	1736	—	—	2	2130
Львовская	2	3662	1	392	—	—	3	4054
Волынская	11	5511	1	2000	3	60000	15	67511
И.-Франковская	2	3700	—	—	—	—	2	3700
Тернопольская	—	—	2	1356	—	—	2	1356
Черновицкая	—	—	1	80	—	—	1	80
Ровенская	—	—	2	16630	—	—	2	16630
Хмельницкая	1	1200	1	410	—	—	2	1610
Житомирская	1	1730	5	4782	—	—	6	6512
Винницкая	4	323	1	1073	—	—	5	1396
Киевская	14	3875	1	450	1	38000	16	42325
Черкасская	—	—	1	6440	—	—	1	6440
Черниговская	—	—	1	600	1	6500	2	7100
Сумская	3	3856	—	—	—	—	3	3856
Полтавская	4	4500	6	48640	—	—	10	53140
Кировоградская	4	151	1	386	—	—	5	537
Одесская	9	46300	4	48600	8	133400	21	228300
Николаевская	4	14600	—	—	—	—	4	14600
Херсонская	3	23800	1	17600	4	185000	8	233900
Запорожская	3	1920	2	42000	3	26200	8	70120
А. Р. Крым	10	99700	1	9600	1	165000	12	274300
Донецкая	1	800	1	2000	1	1400	3	4200
Днепропетровская	—	—	3	3153	—	—	3	3153
Луганская	13	12055	5	3530	—	—	18	15585
Харьковская	—	—	1	1500	—	—	1	1500
В С Е Г О	**90**	**228047**	**43**	**212958**	**22**	**615500**	**182**	**1056535**

Таблица 2

Водно-болотные угодья Украины, имеющие международное значение

Название	площадь (га)	Тип*
Оз. Картал	500	O
Оз. Кугурлуй	6500	K Ts
Дунайская (Килийская) дельта	32800	F L
Оз. Сасык	2100	J K
Тузловская группа лиманов (Шаганы, Алибей, Бурнас)	19000	J
Междуречье Днестра и Турунчука	7600	L K P
Северная часть Днестровского лимана	20000	L K P
Тилигульский лиман	26000	J K Tp
Дельта Днестра	26000	L P
Тендровский залив	38000	A E
Каркиницкий и Джарылгачский заливы	87000	A
Центральный Сиваш	80000	Q H Sp Ss
Восточный Сиваш	165000	Q H Sp Ss
Ягорлыцкий залив	34000	A
Молочный лиман	22400	J F
Обиточный залив и коса	2000	A E
Устье реки Берда, Бердянский залив и коса	1800	A E
Белосарайский залив и коса	2000	A E
Кривой залив и коса	1400	A E
Шацкие озера	38000	O K
Долина реки Припять	12000	L
Долина реки Стохода	10000	L

Примечание: * A — Постоянные морские мелководья. E — Песчаные, гравийные или галечные побережья, включая песчаные бары, косы и островки. F — Системы дельт. H — Соленые луга, болота повышенной солености. J — Прибрежные солоноватоводные/соленые лагуны, которые относительно слабо связаны (узкими протоками) с морем. Q — Постоянные солоноватые или соленые озера. K — Прибрежные пресноводные лагуны, включая пресноводные лагуны дельт. L — Постоянные континентальные дельты. O — Постоянные пресноводные озера (более 8 га). P — Сезонные/пересыхающие пресноводные озера (более 8 га), включая пойменные озера. Sp — Постоянные соленые и солоноватоводные системы болот. Ss — Временные соленые и солоноватоводные системы болот. Tp — Постоянные пресноводные системы болот; пруды (менее 8 га). Ts — Временные/пересыхающие системы болот; пресноводные болота, временные заливные луга и осоковые болотца.

Литература

1. *Scott D. A.* Wetland inventories and the assessment of wetland loss: a global overview // Waterfowl and Wetland Conservation in the 1990s: A Global Perspective. Proc. IWRB Symp., St Petersburg Beach, Florida, USA, 12-19 November 1992. — 1993. — IWRB Special Publication № 26. — P.154-163.
2. *Сохранение* водно-болотных угодий Черного моря. Обзор и предварительный план действий / Под ред. М. Мозера и М. А. Вильсона. — Slimbridge: Изд-во IWRB, 1994. — № 33. — 90 с.
3. *Scott D. A.* A preliminary Inventory of Wetlands of International Importance for Waterfoul in West Europe and Northwest Africa. IWPB Special Publication № 2. — Slimbridge: IWRB, 1980. — 127 p.
4. *Zalidis G., Mantzfvelas A.* Inventory of Greek wetlands as natural resources. — Greek Biotope / Wetland Center, 1994. — 587 p.
5. *Резолюції* та рекомендації 7-ої наради Договірних сторін Конвенції про водно-болотні угіддя, що мають міжнародне значення, головним чином як середовище існування водоплавних птахів (Рамсар, Іран, 1971). — К.: Аваллон, 1999. — 261 с.
6. *Wetlands* of International Importance of Ukraine / Ed. by Frazier S. — Kiyv: Wetlands International – AEME, 2000. — 48 p.

В. П. Стойловський
Одеський національній університет ім. І. І. Мечникова, кафедра зоології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

МЕТОДОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ІНВЕНТАРИЗАЦІЇ ВОДНО-БОЛОТНИХ УГІДЬ УКРАЇНИ

Резюме

У роботі наведено аналіз методичних підходів за інвентаризації водно-болотних угідь світу. Розглянуто найбільш адаптовані методики, що використовувалися в Україні в ході інвентаризаційних робіт.

Ключові слова: водно-болотні угіддя, ресурс, інвентаризація.

V. P. Stoylovsky
Odessa National I. I. Mechnikov University, Department of Zoology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

THE METHODOLOGICAL INVENTORY ASPECTS OF UKRANIAN WETLANDS

Summary

The analysis of methodical approaches of the world wetlands assessment is given. The most adapted techniques used in Ukraine during inventory works are considered.

Keywords: wetlands, resource, inventory.

ЗООЛОГІЯ

УДК 591.444:599.322.2:574.2

Ю. Н. Олейник, канд. биол. наук, доц.
Одесский национальный университет, кафедра зоологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И РАЗВИТИЕ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРАПЧАТОГО СУСЛИКА (SPERMOPHILUS SUSLICUS GULD.) В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Установлено, что структурная организация щитовидной железы крапчатого суслика в целом соответствует плану строения щитовидной железы мелких млекопитающих. Развитие структурной организации железы происходит в раннем постнатальном периоде, завершаясь к моменту выхода из гнезда и началу расселения крапчатого суслика.
Ключевые слова: щитовидная железа, крапчатый суслик, постнатальный период

Щитовидная железа — орган эндокринной системы, оказывающий значительное действие на гомеостаз организма; структурная организация этого органа тесно связана с действием факторов окружающей среды. С действием последних связывают возникновение экологически обусловленных особенностей структурной организации щитовидной железы позвоночных [1]. Л. В. Гербильский с соавт. [2] установили наличие в щитовидной железе хомяковых (джунгарский, крысовидный, сирийский хомячки) «... особых структур — «интрафолликулярных фолликулов», специфичных по крайней мере для представителей трибы Cricetini». Характерны пальцевидные выросты стенок фолликулов, выступающие в фолликулярные полости, появляющиеся в зимний период в щитовидной железе нутрии [3]. По данным морфометрического исследования размеры фолликулов копытных леммингов почти вдвое больше, чем у рыжей полевки и обыкновенного хомяка [4].

Для представителей рода Spermophilus (Citellus) имеются указания лишь на количественные особенности, характерные для половозрелых особей некоторых видов (реликтовый, малый, крапчатый) [5, 6]. Отсутствие достаточно полного описания структурной организации щитовидной железы у евроазиатских представителей р.Spermophilus (Citellus) определило цель данной работы — исследовать структурную организацию щитовидной железы крапчатого суслика.

Материал и методы исследования

Для исследования использовали щитовидные железы, извлеченные у животных в течение 15 минут после гибели и зафиксированные в жидко-

© Ю. Н. Олейник, 2003

сти Буэна. Для выявления границ тироцитов, ядер данных клеток, границ тиреоидных фолликулов, резорбционных вакуолей, стромы щитовидной железы использована методика многоцветной окраски по [7]. Всего исследованы железы от 411 особей крапчатого суслика.

Результаты и анализ результатов

Структурная организация паренхимы щитовидной железы определяется наличием долек, отделенных друг от друга соединительнотканными перегородками. Как показывают современные исследования, паренхима дольки состоит не из отдельных, изолированных друг от друга эпителиальных единиц - тиреоидных фолликулов, а представляет собой пространственно интегрированную группу фолликулов, объединенных интерфолликулярными контактами и общей базальной мембранной - эпителиомер [8, 9]. Одной из существенных характеристик структурной организации железы является зональная гетероморфность данного органа.

Щитовидная железа половозрелых особей крапчатого суслика покрыта капсулой, построенной из соединительной ткани, богатой коллагеновыми волокнами. Толщина капсулы различна на боковой и внутренней поверхностях долей железы. От капсулы вглубь железы, как и у большинства млекопитающих, отходят многочисленные прослойки соединительной ткани, которые становятся тоньше и исчезают по мере приближения к центральной зоне органа. Вследствие этого можно считать, что щитовидная железа имеет псевдодольчатый характер.

Одновременно нами отмечена гетероморфность структур органа, на основании чего в щитовидной железе крапчатого суслика можно выделить 2 зоны: центральную, состоящую из более мелких фолликулов, и периферическую, представленную более крупными фолликулами. Подобного рода зональность щитовидной железы ранее отмечалась у некоторых летучих мышей [10], кролика [11], собак [12], а в железе крыс различия между периферической и центральной зонами появляются еще в процессе эмбрионального развития [13].

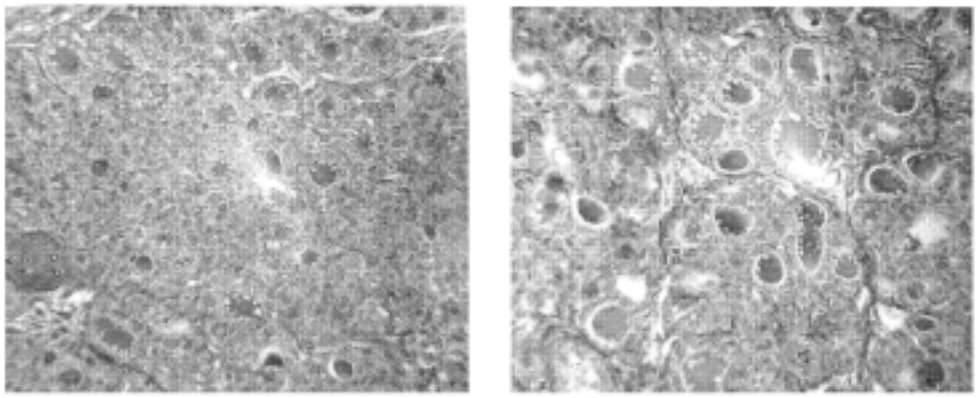
В то же время щитовидная железа крапчатого суслика отличается от щитовидной железы более крупных представителей семейства беличьи - степного и серого сурков, а также от щитовидной железы свиньи. У этих видов четкого разделения щитовидной железы на периферическую и центральную зоны не обнаруживается [14]. У парнопалых - у индийского буйвола и козы - расположение фолликулов иное: мелкие располагаются в периферической зоне органа, а крупные - в центральной [15, 16].

Гетероморфность щитовидной железы заключается не только в изменчивости размеров и формы фолликулов периферической и центральной зоны, но и в структуре самого фолликула. В пределах одного фолликула различные участки образованы тироцитами в различных состояниях. Одна часть стенки фолликула может быть образована уплощенными тироцитами, другая - кубическими или даже призматическими клетками. Морфометричес-

кий анализ щитовидной железы крапчатого суслика показал значительные колебания размеров тироцитов у данного вида (от 4.2 мкм до 12.2 мкм).

Крапчатый суслик относится к группе незрелорождающих млекопитающих, поэтому суслята рождаются голыми и слепыми. Установлено, что в щитовидной железе на 5-е сутки после рождения признаки зональной организации отсутствуют. В щитовидной железы отмечаются лишь немногочисленные мелкие фолликулы. Расположение фолликулов в плоскости среза равномерное, их скоплений не отмечается. Между фолликулами заметны интерфолликулярные эпителиальные структуры, которые осуществляют контакты между фолликулами. Наиболее крупные скопления таких клеток располагаются на периферии. Отмечаются единичные случаи слияния фолликулов.

В возрасте 10 суток в щитовидной железе число фолликулов увеличивается (рис. 1). Становятся заметными соединительнотканные прослойки между дольками железы. Фолликулы в основном округлой формы, мелкие и равномерно расположены на срезе железы. Размеры фолликулов существенно увеличиваются (таблица). Форма тироцитов, образующих стенку фолликулов, становится более разнообразной: от резко уплощенной до высокопризматической (размеры клеток 4.7 – 7.0 мкм). Цитоплазма многих тироцитов уплотнена. Коллоид в мелких фолликулах окрашен более интенсивно. Увеличивается число резорбционных вакуолей (до 7).



а) *б)*

Рис. 1. Щитовидная железа крапчатого суслика в возрасте 10 суток (*а*) и 20 суток (*б*). Окр. по Слинченко. Ув. х40.

Через 15 суток после рождения в щитовидной железе сусликов начинает проявляться зональность в распределении фолликулов. Фолликулы располагаются преимущественно в периферической зоне железы. Размеры фолликулов по сравнению с предыдущим возрастом достоверно не изменяются. В мелких фолликулах коллоида либо совсем нет, либо заметны лишь

его следы. Число резорбционных вакуолей не увеличивается. Большую часть органа занимают скопления отдельных клеток эпителия.

Таблица

Изменение размера фолликулов щитовидной железы крапчатого суслика в ходе раннего постнатального развития

Возраст животного	n	Больший диаметр фолликула (мкм)		Меньший диаметр фолликула (мкм)	
		X	δ	X	δ
5 суток	10	34.0 ± 1.1	3.4	27.0 ± 0.8	2.6
10 суток	19	46.8 ± 1.5	6.6	36.3 ± 1.2	5.3
20 суток	12	49.6 ± 1.4	4.9	38.0 ± 1.2	4.3
25 суток	7	62.4 ± 3.8	9.9	45.9 ± 2.2	5.9
2 месяца	49	80.2 ± 1.8	12.3	56.7 ± 1.2	8.2
1 год	13	76,0 ± 6,8	13,5	57,4 ± 3,3	6,7

На 25-е сутки структура щитовидной железы соответствует строению железы половозрелых животных. Хорошо выраженные соединительнотканные прослойки придают железе дольчатый вид. Рост щитовидной железы происходит как за счет увеличения числа, так и за счет резкого увеличения размеров фолликулов. Появляются отдельные очень крупные фолликулы, расположенные в периферической зоне железы. Форма крупных фолликулов преимущественно вытянутая. Коллоид в фолликулах периферической зоны уплотняется, вплоть до приобретения слоистости. В то же время число резорбционных вакуолей возрастает.

В возрасте одного месяца, когда молодые зверьки начинают выходить из гнезда, отмечено увеличение размеров фолликулов щитовидной железы. Появляются участки с радиальным расположением фолликулов: в центре мелкие, а на периферии более крупные. Ясно выражена дольчатость органа. Увеличивается число крупных фолликулов, среди которых появляются сверхкрупные (диаметром до 114 мкм). Значительно чаще отмечается слияние фолликулов.

К концу 2-го месяца жизни щитовидная железа неполовозрелых особей по морфометрическим параметрам существенно не отличается от железы половозрелых особей. Для нее характерна большая гетероморфность фолликулов: крупные фолликулы располагаются в основном в периферической зоне железы. Форма фолликулов преимущественно округло-вытянутая.

Таким образом, совокупность гистологического и морфометрического исследования щитовидной железы крапчатого суслика свидетельствуют о том, что формирование ее структуры в основном завершается к моменту прозревания, когда происходит качественная перестройка всего организма и изменение его требований в связи с переходом к самостоятельному образу жизни. Ростовые процессы в щитовидной железе, связанные с увеличением размеров фолликулов и числа тироцитов в фолликуле, завершаются к 60 – 70 суткам постнатального развития.

Литература

1. *Гербильский Л. В.* На пути к экологической гистологии // В кн.: Актуальные проблемы экологической гистологии. — Днепропетровск: Изд-во ДГМА, 1994. — С. 15 – 50.
2. *Гербильский Л. В.* Внутриорганная интеграция щитовидной железы: Автореф. дисс. ... д-р мед. наук. М., 1987. — 35 с.
3. *Юнусов А.* Сезонная реактивность щитовидной железы у грызунов с различной экологической адаптацией // Автореф. дисс....канд. биол. наук, Ташкент. — 1975. — 22 с.
4. *Морфология* щитовидной железы некоторых хомяковых // Хомяковые фауны Украины. / Гербильский Л. В., Булахов В. Л., Литвин В. С., Снитко Н. Г., Староселецкая Е. М., Султанова Н. Н. - Киев, 1987. — С. 3 – 7. — (Препринт/АН УССР, Ин-т зоологии; 87.3)
5. *Морфометрическая* характеристика щитовидной железы сусликов / Милованов А. П., Гербильский Л. В., Захарченко А. Ф., Литвин В. С., Лобков В. А., Стойко Т. Г., Султанова Н. Н., Усенко В. С., Черняев А. Л., Дроботова Л. В. // Грызуны: Матер.VI Всес. совещ.: Ленинград, 25 – 28 января 1984 г. — Л.; Наука, 1983. — С. 148 – 149.
6. *Олейник Ю. Н.* Структурная организация и морфометрическая характеристика щитовидной железы крапчатого суслика (Spermophillus suslicus) // Конф. акад. Третьякова. — Одесса: Астропринт, 1999. — С. 74 – 79.
7. *Слинченко Н. З.* Быстрая и прочная окраска соединительной ткани, гиалина, фибрина и фибриноидов // Архив патологии. — 1964. — № 5. — С. 84.
8. Стадии слияния фолликулов щитовидной железы / Гербильский Л. В., Литвин В. С., Майле-Августинович С. Г., Маковецкий В. Д., Репетя О. В., Слесаренко Е. Г., Староселецкая Е. М., Усенко В. С. // Эндокринология. — Киев: Здоров'я, 1987. — Вып. 17. — С. 52 – 53.
9. *Усенко В. С.* Структурная организация щитовидной железы в норме, при действии ретинола и мерказолила: Автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. мед. наук. — Симферополь, 1989. — 16 с.
10. *Velicky J., Velicka V.* Light microscopic observations in the thyroid on the active bats //Folia morphol. — 1975. — V. 223 — P. 7 – 13.
11. *Самофал Т. С.* Роль меди в этиологии экспериментального зоба // Пробл. эндокринол. и гормонотерапии. — 1961. — Т. 7, № 1. — С. 42 – 46.
12. *Bernard W.* La thyroide au cours dela grossesse // Rev. trancaise d'endo-crinologie. — 1927. — V. 25, № 6. — P. 395 – 452.
13. *Eguchi Y., Fuliishi Y., Hasegawa Y.* Ontogeny of tne pituitary-thyroid system in fetal rats: observations on the fatal thyroid after maternal treatment with goitrogen // Anat. Res. — 1980. — V. 2198, № 4. — P. 657 – 642.
14. *Slebodzincki A., Mach Z.* Activity of the pituitary-thyroid system during the neonatal period in the pig // Folia Biol. — 1971. — V. 219, № 2. — P. 227.
15. *Roy K. S., Yadava R. C. P.* Histological and certain histoche-mical studies on the thyroid gland of the Indian buffalo (Bubalus bubalus) // Ind. J. Anim. Sci. — 1975. — V. 245, № 4. — P. 201 – 208.
16. *Singh D., Prakash P., Goel V. D.* A quantitative morfological study of thyroid gland in gonadectomized goats // Int. Vet. J. — 1985. — V. 262. — P. 119 – 126.

Ю. М. Олійник
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра зоології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ І РОЗВИТОК ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ КРАПЧАСТОГО ХОВРАХА (SPERMOPHILUS SUSLICUS GULD.) У РАННЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРІОДІ

Резюме

Установлено, що структурна організація щитовидної залози крапчастого ховраха в цілому відповідає плану будови щитовидної залози дрібних ссавців. Розвиток структурної організації залози відбувається в ранньому постнатальном періоді, завершуючись до моменту виходу із гнізда і початку розселення крапчастого ховраха.

Ключові слова: щитовидна залоза, крапчастый ховрах, постнатальный період

Y. N. Oleinik
Odessa National I. I. Mechnikov University, Departament of Zoology,
Dvoryanskaya St.2, Odessa, 65026, Ukraine

STRUCTURAL ORGANIZATION AND DEVELOPMENT OF THYROID GLAND OF SPOTTED SUSLIK (SPERMOPHILUS SUSLICUS GULD.) IN EARLY POSTNATAL PERIOD

Summary

It is established, that the structural organization of thyroid gland of spotted souslik as a whole corresponds to the plan of the structure of thyroid gland small mammals. The development of structural organization of gland occurs in early postnatal period, is finished by the moment leaving the nest and settling of spotted suslik.

Key words: throid gland,spotted suslik, postnatal period

МІКРОБІОЛОГІЯ

УДК 576.864

Д. Д. Герасименко[1], канд. мед. наук, доц., **Т. К. Гамарц**[2], зав. бак. лаб. СЕС, **О. В. Яковлева**[2], бактеріолог СЕС, **І. В. Трушина**[1], студ.
[1] Одеський національний університет, ім. І. І. Мечникова, кафедра мікробіології та вірусології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна;
[2] СЕС на Одеській залізниці,
вул. В. Арнаутська, 81, Одесса 65007, Україна.

ХАРАКТЕРИСТИКА МІКРОБІОТИ КИШЕЧНИКУ ЗА ДИСБАКТЕРІОЗУ У ЛЮДЕЙ

Вивчали кишковий мікробіоценоз за дисбактеріозу у дорослих і дітей протягом 1998 - 2000 років. Показано, що результати дослідження анаеробної мікробіоти (біфідобактерій) є найбільш показовими за діагностики дисбактеріозу. З'ясовано, що поява S. aureus та підвищення рівня C. albicans у вмісті кишечнику є важливими індикаторами дисбактеріозу.
Ключові слова: дисбактеріоз, мікробіоценоз, ентеробактерії, біфідобактерії.

Порушення якісного та кількісного складу нормальної мікробіоти – дисбактеріоз – спостерігається в епоху масового застосування антибіотиків, які впливають і на нормальну мікробіоту організму [1, 2, 3, 4].

Дисбактеріоз кишечнику можна розглядати як важливий інтегральний показник імунологічної реактивності організму. Вживання еубіотичних препаратів може в таких випадках підвищити імунобіологічну резистентність організму.

Своєчасне виявлення кишкового дисбактеріозу важливе і тому, що він супроводжується активізацією умовно-патогенної мікробіоти (стафілококів, протея, грибів роду Candida, умовно-патогенних ентеробактерій), які можуть приводити до ускладнень [2, 4].

Сказане свідчить про необхідність широкого впровадження досліджень по вивченню мікробіоти кишечнику – сталого та достовірного показника дисбактеріозу у людей, а також положення умовно-патогенних бактерій в нормальному біоценозі кишечнику та їх ролі у формуванні дисбактеріозу. Вважають [2], що наявність цих мікроорганізмів у вмісті кишечнику є показником дисбіотичних порушень у досліджуваній екосистемі.

В зв'язку з цим метою наших досліджень було виявлення змін кількісного та якісного складу мікробіоти кишечнику у досліджуваних на дисбактеріоз людей.

Матеріал та методи дослідження

Об'єктом дослідження були люди віком від 1 до 50 років, які підлягали обстеженню на наявність дисбактеріозу кишечнику з приводу дисфункцій кишкового тракту, застосування антибіотикотерапії та з інших причин.

© Д. Д. Герасименко, Т. К. Гамарц, О. В. Яковлева, І. В. Трушина, 2003

Матеріалом були фекалії досліджуваних, що доставлялися в лабораторію без консерванту не пізніше як через 2 години після дефекації. Отриманий кал розбавляли фізіологічним розчином в межах від 10^{-1} до 10^{-9}.

Для виявлення та кількісного обліку кишкової палички, в тому числі її варіантів з ослабленою ферментативною активністю, здійснювали засів на середовище Ендо. У випадку гемолітичної мікробіоти використовували 5% кровяний агар, для стафілококів – жовточно-сольовий агар, для грибів роду Candida – середовище Сабуро, для ентеропатогенних ешеріхій – середовище Симонса. Засів здійснювали секторним методом Гоулта [5, 6]. Такий же секторний засів на середовище Плоскирева використовували для виділення патогенних ентеробактерій. Після інкубації проводили облік мікробіоти, що виросла, та визначали її кількість в 1 мл проби за допомогою спеціальної таблиці [6], а для кількісного визначення в 1 г фекалій отриманий результат помножували на величину розбавлення фекалій.

Для визначення протею робили засів із розведень 10^{-3}, 10^{-5}, 10^{-7} на МПА за методом Шукевича [6], анаеробів (біфідобактерій) – на регенероване середовище Блаукока із розведень 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9} [7, 8, 9].

Дисбактеріоз кишечнику визначали за такими ознаками [9]: наявність у вмісті кишечнику (в 1 г фекалій) біфідобактерій у кількості, меншій 10^9, зменшення або збільшення кількості кишкових паличок (менше 10^6 або більше 10^8), зростання кількості лактозонегативних або слабко зброджуючих ешеріхій (більше 10% від їх загальної кількості); виявлення (більше 10^4) умовно-патогенних грамнегативних паличок – таких як клебсіела, цитробактер та інші; знаходження грибів роду Candida ($> 10^3$); наявність S. aureus та ін.

Результати досліджень

За обстеження у 1998 – 2000 роках 334 осіб різного віку (від 1 до 50 років) порушення біоценозу кишечнику за даними мікробіологічних досліджень було виявлено у переважної більшості (94%) людей. Сутність і частота виявлених порушень мікробіоценозу кишечнику у 316 обстежених представлена у табл.

Домінуючою групою, що характерна для еубіозу здорових людей, є безгазові анаеробні бактерії, в тому числі біфідобактерії, на долю яких припадає найбільша кількість бактерій кишечнику. Аналізуючи дані, що наведені в таблиці 1, слід звернути увагу на пригнічення анаеробної мікробіоти, а саме біфідобактерій, ріст яких на середовищі Блаукока не виявлявся за розведення 10^{-9} у 75,5% досліджуваних людей і навіть за розведення 10^{-7}.

Кількість основного представника облігатної аеробної мікробіоти – кишкової палички – майже у 20% досліджуваних зменшувалася до 10^4 -10^5 в 1 г фекалій. При цьому виявлялися не характерні для нормального біоценозу кишечнику кишкові палички з ослабленою ферментативною активністю у третини досліджених людей з дисбактеріозом.

Таблиця 1

Сутність і частота змін мікробіоценозу у людей за дисбактеріозу

Досліджувані мікроорганізми	Норма (вміст в 1 г фекалій)	Сутність змін у мікробіоценозі	Кількість обстежених із зміною мікробіоти	
			Всього	% від обстежених
Біфідобактерії	10^9	$< 10^9$	229	72,5
Ешерихії:				
загальна кількість	$10^6 – 10^8$	$< 10^6$	61	19,3
		$> 10^8$	7	2,2
з послабленою активністю	до 10%	> 10%	116	36,7
Гемолітична мікробіота	Відсутня	Наявна	85	26,9
Стафілококи:				
коагулазонегативні	До 10^4	Відсутні	-	-
коагулазопозитивні	Немає	Наявність S. aureus	92	29,1
Гриби роду Candida	До 10^3	> до 10^3	97	30,7
Умовно-патогенні ентеробактерії	10^3 - 10^4	$> 10^3 – 10^4$	71	22,5
Бактерії роду Proteus	До 10^3	$> 10^3$	15	4,7
Патогенні ентеробактерії	Немає	Наявні	18	5,7

Відсоток людей, у яких виявляли умовно-патогенні мікроорганізми у кількості більше за 10^3 (у дітей) та 10^4 (у дорослих), становив 22,5%. Серед цих мікроорганізмів найчастіше виявлялися бактерії роду Klebsiella – майже у половини обстежених людей, у яких були виявлені патогенні ентеробактерії.

Майже у 6% обстежених виявляли патогенні ентеробактерії (ентеропатогенні кишкові палички 018, 020, 026, 0127, 0142, 0144, 0408 та S. sonnei), що свідчить про ускладнення дисбактеріозу патогенними мікроорганізмами.

Звертав на себе увагу і той факт, що у третини досліджуваних людей зростала ($> 10^3$) кількість грибів роду Candida. Майже у 30% досліджуваних вміст кишечнику у великій кількості ($10^3 – 10^5$) утримував S. aureus, яка не повинна виявлятися взагалі. Ці мікроорганізми висівалися в монокультурі або в асоціації, але з переважним вмістом окремих асоціантів, що давало можливість відносити дисбактеріоз до стафілококового, кандидозного тощо.

Таким чином, дисбактеріозу властивий зсув мікробних співвідношень, викликаний надмірним розвитком факультативних мікроорганізмів, які в кишечнику здорових людей не знаходяться або існують у невеликій кількості.

Показниками дисбактеріозу у обстежених людей були пригнічення анаеробної мікробіоти (біфідобактерій), кишкової палички, зміна якісного складу мікроорганізмів (зростання слабкоферментуючих варіантів), наявність у кишечнику умовно-патогенних ентеробактерій, S. aureus та грибів роду Candida.

Література

1. *Навашин С. М., Фомина И. П.* Рациональная антибиотикотерапия. – М.: Медицина, 1982. – С. 437 – 439.
2. *Смолянская А. З.* Дисбактериозы – инфекционные процессы смешанной этиологии // Антибиотики и мед. биотехнологии, 1987. – N3. – С. 186 – 190.
3. *Siman C. Stille W.* Antibiotic – therapy in clinic and practice. – London, 1989. – P. 182 - 185
4. *Красноголовец В. Н.* Дисбактериоз кишечника. – М.: Медицина, 1989. – 206 с.
5. *Методические* указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных энтеробактериями. – М.: МЗ СССР, 1984. – 145 с.
6. *Об унификации* микробиологических (бактериологических) методов обследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений. – Приказ № 535 Мз СССР от 22.04.85 г. – С. 18.
7. *Микробиологическая* диагностика дисбактериоза (методические рекомендации). – К.: Мз УССР, 1986. -10 с.
8. *Применение* бактерийных биологических препаратов в практике лечения больных кишечными инфекциями. Диагностика и лечение дисбактериоза кишечника (методические рекомендации). – М.: Мз СССР, 1986. – 23 с.
9. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О. Биргера. – М.: Медицина, 1982. – С. 229 – 231.

Д. Д. Герасименко[1], Т. К. Гамарц[2], О. В. Яковлева[2], И. В. Трушина[1]

[1]Одесский национальный университет им. И. И.Мечникова,
кафедра микробиологии и вирусологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина;

[2]СЕС на Одеській залізниці,
вул. В. Арнауцька, 81, Одесса 65007, Україна.

ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ПРИ ДИСБАКТЕРИОЗЕ У ЛЮДЕЙ

Резюме

Изучен кишечный микробиоценоз у взрослых и детей при дисбактериозе на протяжении 1998 – 2000 гг. Показано, что результаты исследования анаэробной микробиоты (бифидобактерий) наиболее показательны при диагностике дисбактериоза. Появление S. aureus и увеличение уровня Candida albicans в кишечнике является важным индикатором дисбактериоза.

Ключевые слова: дисбактериоз, микробиоценоз, энтеробактерии, бифидобактерии.

D. D. Gerasimenko[1], T. T. Hamarts[2], A. B. Yakovleva[2], I. V. Trushina[1]
[1]Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Microbiology and Virology,
Dvoryanskaya St., Odessa, 65026, Ukraine;

[2]Railway Sanitary-epidemiological Station,
B. Arnautskaya St., 81, Odessa, 65007, Ukraine.

CHARACTERISTICS OF ENTERIC MICROBIOTA IN HUMAN WITH DYSBACTERIOSIS

Summary

The enteric microbiocenosis in adult and children with dysbacteriosis has been studied during 1998 – 2000. It has been shown that the results of anaerobic microbiota (bifidobacteria) investigation were the most visiable for diagnostics of dysbacteriosis.

It has been also shown that the appearance of S. aureus and the increasing of C. albicans level in intestine were important indices of dysbacteriosis.

Key words: dysbacteriosis, microbiocenosis, enterobacteria, bifidobactria.

УДК 645.212

Т. В. Євса, асп.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра мікробіології і вірусології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ПРОТИЗАПАЛЬНА ДІЯ ТА АНТИОКСИДАНТНА ВЛАСТИВІСТЬ РОСЛИННОГО МЕЛАНІНУ

Встановлена наявність у рослинного меланіну виражених протизапальних властивостей, які, очевидно, пов'язані зі здатністю цього пігменту інгібувати циклооксигеназу (при запаленні, викликаним карагеніном) та ліпооксигеназу (при запаленні, індукованим зимозаном). Крім того, меланін активує антиоксидантні системи організму.
Ключові слова: меланін, карагенін, зимозан, протизапальна і антиоксидантна активність.

У роботах останніх років встановлено, що меланін, який вперше був отриманий співробітниками лабораторії хімії природничих сполук Фізико-хімічного інституту ім. О. В. Богатського АН України з червоних сортів культурного винограду, має унікальні властивості, які дозволяють розглядати цей препарат як можливий протипухлинний, стреспротекторний та гепатозахистний агент [1 – 4].

Раніше також було показано, що меланін має імуномодулюючу та генопротекторну активність [5].

Метою цієї роботи стало вивчення впливу різних доз меланіну та різних схем його введення на реакції запалення і антиоксидантну активність сироватки.

Матеріал та методи дослідження

В експериментах використовували білих мишей масою 18 – 24 г, що містилися в стандартних умовах віварію з постійним доступом до води. Остання годівля відбувалася за 24 години до експерименту.

Агентами, що індукують реакції запалення, були: карагенін – полісахарид з морських водоростей, та зимозан – полісахаридний комплекс, отриманий з клітин дріжджів *Saccharomyces cerevisiae.*

Досліджуваний препарат меланіну вводили мишам перорально одноразово (залежно від схеми, за 24 години, за 1 годину до або через 1 годину після ін'єкції агенту, який викликає запалення) та триразово на протязі трьох днів до експерименту у різних дозах (1 мг/кг, 10 мг/кг, 100 мг/кг).

Карагенін (10 мг/мл) вводили в об'ємі 0,05 мл під апоневроз однієї із задніх кінцівок. Через 4 години тварин забивали, збирали кров та визнача-

 © Т. В. Євса, 2003

ли масу контрольних та дослідних лап [6]. Сироватку досліджували на антиоксидантну активність [7].

Зимозан (20 мг/мл) вводили в об'ємі 0,05 мл [6]. Залежно від схеми експерименту, мишей забивали через 30 хвилин або через 2 години 30 хвилин після ін'єкції запалювального агенту і одразу визначали масу лап.

Результати досліджень та їх обговорення

Отримані результати свідчать, що при запаленні, яке було викликано карагеніном, вже одноразове введення меланіну в дозі 100 мг/ кг зменшує вираженість реакції на 15%. Більш виражений ефект спостерігали за триразового вживання препарату. В цьому випадку інгібування сягало більше 30% (рис. 1). Враховуючи, що дана модель запального процесу передбачає переважну активацію циклооксигеназного шляху окиснення арахідонової кислоти, можна припустити наявність у самого меланіну та/або його метаболітів здатності інгібувати циклооксигеназу.

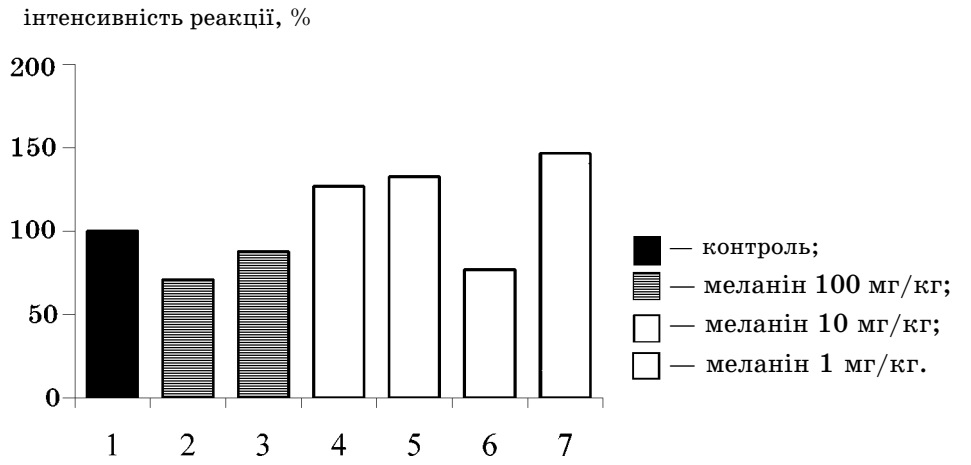


Рис. 1. Вплив меланіну на запалення, індуковане карагеніном.

1 — контроль; 2, 4, 6 – триразове введення зазначеної дози препарату; 3, 5, 7 – одноразове введення зазначеної дози препарату

Дослідження антиоксидантної активності сироватки цих тварин свідчить про те, що доза меланіну 100 мг/кг чинить значний вплив на цей показник: підвищує його при одноразовому введенні в 7 разів, а при триразовому – в 11 разів. Одночасно в сироватці крови, печінці та перитонеальних макрофагах дослідних мишей достовірно зменшується вміст кінцевого продукту перекисного окиснення ліпідів – малонового диальдегіду.

Низькі дози меланіну викликали менш виражені ефекти: при триразовому введенні меланіну в дозі 1 мг/кг антиоксидантна активність сироватки досліджених мишей була лише в 2 рази більша контролю, а при трикратному введенні меланіну дозою 10 мг/кг – в 1,4 рази (рис. 2).

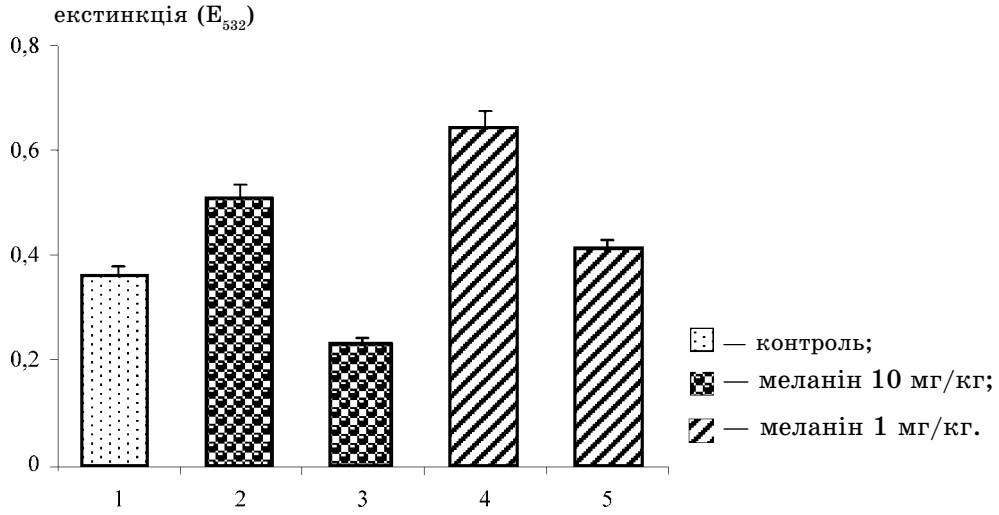


Рис. 2. Вплив низьких доз меланіну на антиокиснювальну активність сироватки.

1 – контроль; 2, 4 – триразове введення меланіну; 3, 5 – одноразове введення меланіну

У випадку запалення, викликаного зимозаном, були отримані такі результати. Меланін в дозі 100 мг/кг, яка була введена за 24 години до експерименту, на 40% ослаблює первинну запальну реакцію, яка розвивається на протязі перших 30 хвилин після ін'єкції зимозану. Спостереження за розвитком запального процесу в більш віддалені строки (через 2 год 30 хв) виявило, що більш ефективним було застосування меланіну за 1 годину до ініціації реакції запалення (рис. 3). Вважається, що індукований зимозаном набряк є результатом активації ліпооксигеназного шляху окиснення арахідонової кислоти, і можна припустити, що сам меланін та/або його метаболіти в організмі здатні інгібувати ліпооксигеназу.

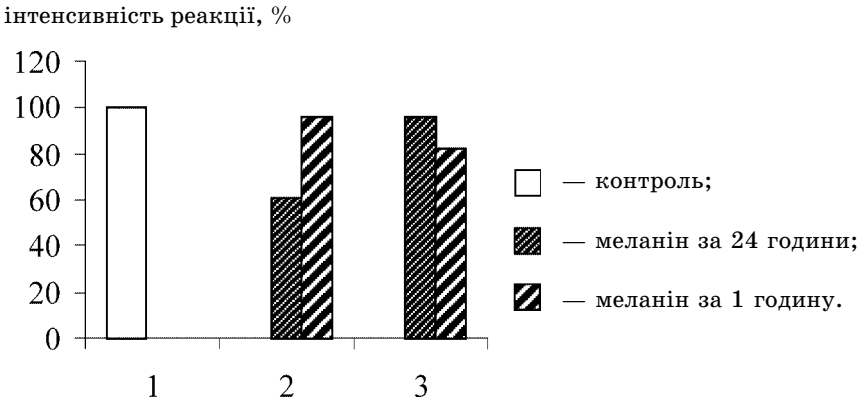


Рис. 3. Вплив меланіну на реакцію запалення, яка викликається зимозаном.

1 - контроль; 2 – через 30 хв після введення зимозану; 3 – через 2 год 30 хв після введення зимозану

Таким чином, проведене дослідження свідчить про наявність у рослинного меланіну виражених протизапальних властивостей і про здатність його активувати антиоксидантні системи організму.

Література

1. *Барабой В. А.* Меланин: структура, биосинтез, биологические функции // Укр. биохим. журнал. – 1999. – Т.71, № 4. – С. 5 –14.
2. *Хрулева И. М.* Исследование структуры и свойств меланина и его синтетических аналогов: Автореф. дис.…канд. хим. наук. – М.: Наука, 1973. – С. 57 – 62.
3. Сава В. М., Макан С.Ю. Меланиновые пигменты культурного винограда. – Кишинев: Штиинца, 1992. – 164 с.
4. *Галкин Б.Н., Головенко Н.Я., Филиппова Т. О.* Влияние эномеланина на перекисное окисление липидов и систему глутатиона в легких при воздействии диоксида азота // Укр. биохим. журнал. – 1995. – Т. 67, № 4. – С. 115 - 119.
5. *Головенко Н. Я., Галкин Б. Н., Хаустова Н. Д.* Влияние эномеланина на генотоксические эффекты диоксида азота // Совр. проблемы токсикологии. -1999. – № 1. – С. 91 – 94.
6. *Дроговоз С. М., Зупанець І. А., Мохорт М. А.* Експериментальне (доклінічне) вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як нестероїдні протизапальні засоби. Київ: Здоров'я. – 2000. – С. 292 – 307.
7. *Промыков М. Ш., Демчук М. Л.* Модификация метода определения суммарной антиоксидантной активности сыворотки крови // Вопросы мед. химии. – 1990. - Т. 36, № 4. – С. 90 – 92.

Т. В. Евса
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра микробиологии и вирусологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ И АНТИОКИСЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МЕЛАНИНА

Резюме

Установлено наличие у растительного меланина выраженных противовоспалительных свойств, по-видимому, связанных со способностью этого пигмента ингибировать циклооксигеназу (при воспалении, вызываемом каррагенином) и липооксигеназу (при воспалении, вызванном зимозаном). Кроме того, меланин активирует антиоксидантные системы организма.

Ключевые слова: меланин, каррагенин, зимозан, противовоспалительная и антиоксидантная активность.

T. V. Evsa
Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Microbiology and Virology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

ANTIINFLAMMATORY AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF MELANIN

Summary

Melanin has been shown to have the marked anti-inflammatory activity, evidently connected with this pigment ability to inhibit cyclooxygenase (under the inflammation induced by carragenin) and lipooxygenase (during the inflammation induced by zymozan). Besides, melanin activates antioxidant organism systems.

Key words: melanin, carragenin, zymozan, anti-inflammatory and antioxydant activity.

УДК 582.282.23.043

О. Ю. Зінченко, асп.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра мікробіології і вірусології,
вул. Дворянська, 2, 65026, Одеса, Україна

ВПЛИВ ПОРФІРИНІВ НА РІСТ ГРАМПОЗИТИВНИХ І ГРАМНЕГАТИВНИХ БАКТЕРІЙ

Досліджено темнову і фотоіндуковану токсичність ряду природних та синтетичних порфіринів по відношенню до клітин *Staphylococcus aureus* і *Escherichia coli*. Показано, що в умовах темнового досліду грампозитивні і грамнегативні бактерії мають різну чутливість до вивчених сполук. При дослідженні фотоіндукованої дії значних відмінностей не спостерігали. Найбільш токсичними для обох мікроорганізмів виявилися сполуки, що містять в мезо-положенні похідні хіноліну та піридину.
Ключові слова: порфірини, клітинна стінка, темнова токсичність, фотосенсибілізація.

Останнім часом зростання антибіотикорезистентності мікроорганізмів дуже загострило проблему пошуку принципово нових антибактеріальних засобів. Одним із перспективних наукових напрямків є вивчення взаємодії синтетичних порфіринів з мікробними клітинами. Дослідження ряду авторів показали наявність у деяких сполук даної групи інгібуючої активності по відношенню до мікроорганізмів [1, 2]. Однак відмінності в будові клітинної стінки можуть обумовлювати різну чутливість бактерій до дії порфіринів [3]. У зв'язку з цим метою даної роботи було порівняльне вивчення темнового та фотоіндукованого впливу синтетичних порфіринів на ріст грампозитивних і грамнегативних бактерій.

Матеріали і методи

Об'єктами дослідження слугували клітини *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli*. В експериментах використовували добові культури мікроорганізмів, які вирощували на скошеному м'ясо-пептонному агарі (МПА) в пробірках.

Темнову токсичність порфіринів визначали модифікованим мікрометодом серійних розведень [4]. При цьому використовували середовище Гісса з глюкозою без індикатора в кількості 1 мл на пробірку. Посівний матеріал вносили по 50 мкл.

Фотоіндуковану токсичність викликали опроміненням суспензії мікроорганізмів, яка містила 10^7 кл/мл, видимим світлом в присутності порфіринів. Суспензію отримували шляхом змиву добової культури з поверхні скошеного МПА. Густину змиву визначали за стандартом мутності ГКІ № 10

© О. Ю. Зінченко, 2003

та доводили стерильним фізіологічним розчином до потрібної густини. Інтенсивність опромінення складала 60 Вт/м^2. Опромінену суспензію розводили стерильним фізіологічним розчином до густини 1000 кл/мл та вносили по 50 мкл в пробірки, що містили по 1мл стерильного середовища Гісса без індикатора.

У дослідах вивчали вплив природних порфіринів – геміну (1) та протопорфірину IX (2), а також синтетичних — мезо-тетра-(6-хінолініл)порфіринато хлориду (3), мезо-тетра-(6-хінолініл)нітропорфіринато хлориду (4), мезо-тетра-(5-хінолініл)порфіринато йодиду (5), мезо-тетра-(4-N-метилпіридил)-порфіринато йодиду (6), його комплекс з Zn (7) і Ni (8) та мезо-тетра-(6-хінолініл)порфіринато тозилату (9).

Концентрації порфіринів при визначенні темнової активності становили 10, 20 та 40 мкМ, фотоіндукованої – 40 мкМ.

Токсичність досліджуваних сполук в обох випадках оцінювали за наявністю інгібування росту бактерій у рідкому середовищі. Інтенсивність росту визначали спектрофотометрично на СФ «Spekol-10» після 24 годин інкубації при 37^{0}С. Контролем слугували рідкі культури мікроорганізмів, яких не піддавали впливу порфіринів.

Результати і їх обговорення

У попередніх роботах повідомлялося про відсутність темнової токсичності у природних порфіринів [5], тому в даній серії дослідів ця властивість не вивчалася.

При вивченні дії синтетичних порфіринів з'ясувалося, що жодна з досліджуваних сполук у використаних концентраціях не інгібує росту *E. coli* в умовах темнового досліду. Проте, у випадку з *S. aureus* спостерігали помітну затримку росту при культивуванні в присутності речовини 9 у концентраціях 20 і 40 мкМ. Незначне інгібування також викликають сполуки 6, 7, 8, 9 у певних концентраціях (табл. 1).

При визначенні фотоіндукованого впливу досліджуваних сполук також виявили відмінності у дії порфіринів на тест-мікроорганізми. Так, опромінення в присутності природних порфіринів дещо стимулювало ріст кишкової палички, але практично не впливало на ріст стафілокока (рис. 1). Слід зазначити, що опромінення тест-об'єктів у відсутність порфіринів давало такий самий ефект.

Що ж до дії синтетичних порфіринів, то найбільш активними по відношенню до *E. coli* виявилися речовини 3, 6, 7, дещо слабшим був вплив сполук 4 та 8. При опроміненні *S. aureus* найбільш виражену токсичність мали порфірини 5 і 6, які майже повністю пригнічували ріст культури. Речовини 3, 4, 7, 9 також помітно гальмували ріст стафілокока. Отже, найбільш активними по відношенню до обох штамів виявилися мезо-тетра-(6-хінолініл)порфіринато хлорид (3), мезо-тетра-(4-N-метилпіридил) порфіринато йодид (6) та його комплекс з Zn (7).

Таблиця 1

Інтенсивність росту *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus* під впливом порфіринів у темнових умовах (E_{540} ґ 10^{-3})

Сполука	Мікроорганізм					
	Escherichia coli			*Staphylococcus aureus*		
	Концентрація сполуки в поживному середовищі, мкМ					
	10	20	40	10	20	40
3	742 ± 33*	817 ± 59*	953 ± 108*	732 ± 49	772 ± 55	766 ± 116
4	700 ± 70	940 ± 71*	1273 ± 108*	721 ± 40	804 ± 75	957 ± 102*
5	652 ± 57	732 ± 46	912 ± 83	743 ± 43	726 ± 43	740 ± 76
6	644 ± 44	622 ± 58	702 ± 74	803 ± 64	677 ± 40*	753 ± 62
7	702 ± 51	730 ± 34	748 ± 51	662 ± 36*	609 ± 37*	740 ± 49
8	710 ± 52	726 ± 41	874 ± 46	575 ± 50*	639 ± 40*	680 ± 52*
9	724 ± 38	729 ± 58	949 ± 118	624 ± 38*	305 ± 92*	335 ± 96*
Контроль	640 ± 32			737 ± 33		

Примітка: * — відмінності достовірні у порівнянні з контролем

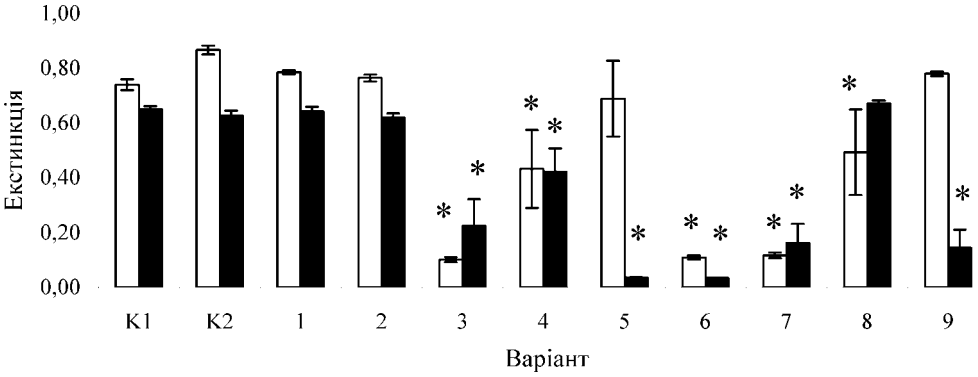


Рис. 1. Інтенсивність росту E. coli та S. aureus після опромінення в присутності порфіринів

□ — Escherichia coli; ■ — Staphylococcus aureus; $К_1$ — контроль без опромінення; $К_2$ — контроль з опроміненням; * — відмінності достовірні у порівнянні з контролем ($К_1$).

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що клітини грампозитивних бактерій (приклад — *S. aureus)* є більш чутливими до дії синтетичних порфіринів як при опроміненні, так і без нього. Відносна резистентність клітин *E. coli*, можливо, пов'язана з будовою клітинної стінки. Наявність двох мембран може створювати додатковий бар'єр для проникнення молекул порфіринів. Це і є вірогідною причиною відсутності впливу порфіринів на ріст кишкової палички в умовах темнового варіанту досліду. Проте молекули порфіринів, ймовірно, здатні взаємодіяти з поверхневими структурами клітин і викликати руйнування останніх при опроміненні.

Література

1. *Страховская М. Г., Шумарина А. О., Иванова Э. В., Фрайкин Г. Я.* Инактивация дрожжей *Candida guilliermondii* видимым светом при индуцированном синтезе эндогенных порфиринов // Микробиология. – 1998. – Т.67, № 3. – С. 360 - 363.
2. *Dei D., Possenti M.* Photodynamic inactivation of Candida albicans cells by using isolated constitutional isomers of zinc (II) phthalocyanine // I[st] Intern. Conference on Porphyrins and Phthalocyanine: Proc. (Dijon, France, 25 – 30 June 2000). — Dijon, 2000. — P. 387.
3. *Шлегель Г.* Общая микробиология. — М.: Мир, 1987. — 566 с.
4. *Биргер М. О.* Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. – М.: Медицина, 1972. – С. 175 – 177.
5. *Филиппова Т. О., Галкин Б. Н., Зинченко О. Ю.* и др. Взаимодействие микроорганизмов с природными и синтетическими порфиринами // Вісник ОНУ. — 2001. — Т. 6, № 4. — С. 317 – 321.

О. Ю. Зинченко
Одесский национальный университет им И. И. Мечникова,
кафедра микробиологии и вирусологии
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ВЛИЯНИЕ ПОРФИРИНОВ НА РОСТ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ И ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Резюме

Исследованы темновая и фотоиндуцированная токсичность ряда природных и синтетических порфиринов по отношению к клеткам *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Показано, что в условиях темнового опыта грамположительные и грамотрицательные бактерии имеют различную чувствительность к изученным соединениям. При исследовании фотоиндуцированного действия значительных отличий не наблюдали. Наиболее токсичными для обоих микроорганизмов оказались соединения, содержащие в мезо-положении производные хинолина и пиридина.

Ключевые слова: порфирины, клеточная стенка, темновая токсичность, фотосенсибилизация.

O. Yu. Zinchenko
Odessa National Mechnikov University,
Department of Microbiology and Virology,
Dvoryanskaja St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

PORPHYRINS INFLUENCE ON GRAM-NEGATIVE AND GRAM-POSITIVE BACTERIA GROWTH

Summary

The dark and photoinduced toxicity of some natural and synthetic porphyrins for *Staphylococcus aureus and Escherichia coli* cells was studied. It has been shown that gram-positive and gram-negative bacteria have different sensitivity to dark activity of studied compounds. Studing the photosensitizing effects we have not marked out any abrupt differences. The compounds with a quinoline and pyridine derivatives at the meso-position were the most toxic for both microorganisms.

Key words: porphyrins, cell wall, dark toxicity, photosensibilization.

УДК 579.22

Н. В. Кур'ята, асп., **Н. О. Єлинська,** канд. біол. наук, доц.
Одеський національний університет, кафедра мікробіології і вірусології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ЗДАТНІСТЬ ШТАМІВ ЛАКТОБАЦИЛ ПРОДУКУВАТИ АНТИДЕФЕНСИНИ

Досліджували здатність штамів лактобацил, виділених з травного тракту дітей, та колекційних штамів до продукції антидефенсинів. Встановлено, що жоден штам лактобацил не був здатен інактивувати лізоцим. У 11,8 % штамів лактобацил, які зберігалися протягом 6 місяців, виявлено антикомплементарну активність (АКА), встановлено її рівень. Показано, що при зберіганні упродовж 18 місяців усі штами лактобацил втрачали АКА.
Ключові слова: лактобацили, антидефенсини, лізоцим, комплемент.

Одну з важливих ролей в утриманні бактерій всередині макроорганізму вчені відводять секреції антидефенсинів – чинників бактеріальної природи, що інактивують захисні механізми хазяїна, до яких в першу чергу відносяться лізоцим та комплемент [1, 2].

Здатність бактерій специфічно інактивувати лізоцим хазяїна було визначено як антилізоцимну активність, роль якої полягає в персистенції мікроорганізмів, однак в літературі наявні дані лише про патогенні мікроорганізми [2]. Ця ознака зустрічається у більшості видів (88 – 100 % випадків) грамнегативних патогенних бактерій. Для грампозитивних патогенних бактерій ця ознака не є характерною і зустрічається лише у 4,2 % штамів [3]. Один із варіантів механізму антилізоцимної активності представників індигенної кишкової мікробіоти автори вбачають в утилізації бактеріями лізоциму як ростового субстрату, оскільки для бактерій він може бути важливим джерелом органічного азоту.

Антилізоцимна активність повинна розглядатися не лише як механізм персистенції того чи іншого мікроорганізму всередині хазяїна, а і як можливий імунодепресивний чинник. Адже лізоцим є одним з важливих чинників імунітету і входить до низки провідних бактерицидних ферментних систем клітин фагоцитарного ряду, а також інших клітин і тканин організму [3].

До секретованих чинників, які забезпечують персистування мікробної клітини, слід віднести і здатність до інактивації антибактеріального фрагменту препарату людського лейкоцитарного інтерферону. Бактеріальній деградації підлягає і комплемент. Антикомплементарна активність відома для стафілококів, стрептококів, нейсерій та псевдомонад [4]. Про можливу антикомплементарну активність лактобацил дані літератури відсутні.

Як видно з літератури, антилізоцимна і антикомплементарна активність досліджувалася майже виключно для патогенних мікроорганізмів, у той

© Н. В. Кур'ята, Н. О. Єлинська, 2003

час коли є всі підстави вважати, що вона може бути властивою і представникам нормальної мікробіоти організму людини, зокрема – лактобацилам.

Метою даної роботи було дослідження здатності штамів лактобацил до продукції антидефенсинів, здатних інактивувати лізоцим і комплемент.

Матеріал і методи дослідження

Матеріалом дослідження слугували 64 штами лактобацил, ізольованих із кишечника здорових дітей, та музейні штами: *L. buchneri* ATCC 4005, *L. fermentum* ATCC 14931, *L. acidophilus* ATCC 33200, *L. helveticus* ATCC 15009, *L. gasseri* AO 11 і *L. acidophilus* ATCC 4356.

Антилізоцимну активність цих штамів визначали за допомогою якісного фотометричного методу Hawiger [5] у нашій модифікації. Досліджувані штами лактобацил вирощували у 5 мл рідкого живильного середовища MRS при 37 °С протягом 24 годин і центрифугували за 3000 об/хв протягом 30 хвилин. Чисту культуру тест-штаму на лізоцим *Micrococcus luteus* УКМ Ас 645^T вирощували на м'ясо-пептонному бульйоні при 37 °С протягом 48 годин, центрифугували за 3000 об/хв протягом 30 хвилин. Супернатант зливали, фрагменти клітинних стінок отримували, приливаючи до осаду клітин 0,5 % розчин NaCl [6]. Отриману суміш центрифугували та двічі відмивали 1/15 М фосфатним буфером (KH_2PO_4 – 7,72 г, $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ – 1,78 г, води дистильованої – до 1000 мл; pH 7,2 – 7,4), після чого її екстинкцію доводили до 0,300 на спектрофотометрі СФ-26 при λ=540 нм [7]. Суспензію клітинних стінок автоклавували при 120 °С протягом 20 хвилин і зберігали при 4 °С [8].

В дослідні пробірки вносили по 1 мл супернатантів досліджуваних штамів лактобацил і розчину стандартного яєчного лізоциму в концентрації 30 мкг/мл. Контролем слугувала суміш 1 мл розчину лізоциму в концентрації 30 мкг/мл та 1 мл стерильного MRS-бульйону. Суміш інкубували протягом 2 годин при 37 °С, після чого туди додавали по 2 мл стандартної суспензії фрагментів клітинних стінок тест-мікроба *Micrococcus luteus* УКМ Ас 645^T. Штам вважали здатним до інактивації лізоциму, якщо у якісному тесті на продукцію антилізоцимних агентів дослідне значення екстинкції було вищим від контрольного на 10 %, тобто якщо виконувалася умова $E_д/E_к-1 \geq E_к/10$, де $E_к$ – контрольне значення екстинкції, а $E_д$ - дослідне.

Для вивчення здатності штамів лактобацил інактивувати комплемент використовували фотометричний метод. Досліджувані штами лактобацил вирощували у 5 мл рідкого живильного середовища MRS при 37 °С протягом 24 годин і тричі відмивали фосфатним буфером pH 7,2 – 7,4, після чого об'єм суспеній доводили тим же буфером до початкового. У якості джерела комплементу використовували сироватку морської свинки. Активність комплементу визначали перед основним дослідом за допомогою фотометричного методу [9]. У дослідних пробірках об'єднували по 1 мл суспензії лактобацил і комплементу, концентрація якого в фізіологічному розчині становила 20 C^1H_{50}. Контролем слугували пробірки, куди замість

суспензій лактобацил додавали буферний розчин. Пробірки інкубували при 37 °С протягом 2 годин. Потім туди додавали по 2 мл 5 % суспензії еритроцитів барана в фосфатному буфері pH 7,2 – 7,4, сенсибілізованих гемолітичною сироваткою, після чого суміш інкубували при 37 °С протягом 1 години. Реакцію зупиняли, витримуючи пробірки 10 хвилин у холодильнику при температурі 4 °С. Проби центрифугували при 2000 об/хв протягом 5 хвилин і вимірювали їх екстинкцію при λ = 480 нм. Антикомплементарну активність (АКА) лактобацил визначали за формулою $(1 - E_к/E_д)\cdot C/E_s$, де $E_к$ і $E_д$ – контрольне і дослідне значення екстинкції (одиниць), С – початкова концентрація комплементу (C^1H_{50}-одиниць), E_s – екстинкція суспензій лактобацил у ростових концентраціях. АКА виражали в анти-C^1H_{50}/од. екстинкції суспензії лактобацил. Наявність антикомплементарної властивості бактерій перевіряли через 6 і 18 місяців після виділення штамів лактобацил з природного середовища.

Результати і їх обговорення

За допомогою якісного тесту на наявність антилізоцимної активності (АЛА) нами було встановлено, що жоден штам лактобацил не був здатним до інактивації стандартного яєчного лізоциму.

Якісні дослідження на наявність антикомплементарної активності (АКА) показали, що через 6 місяців після виділення з природного середовища 11,8 % досліджуваних штамів лактобацил були здатними до інактивації комплементу в гемолітичній системі. Більшість штамів лактобацил не мали АКА.

Дані про рівень АКА штамів лактобацил, здатних до інактивації комплементу в гемолітичній системі через 6 місяців після виділення, наведено в табл. 1. Як видно з таблиці 1, серед штамів, здатних до інактивації комплемента, найбільшу АКА виявив штам *L. helveticus* ATCC 15009. Рівень його АКА становив 22,15 ± 0,67 анти- C^1H_{50}. АКА 2-х досліджуваних штамів лактобацил (2,9 % від загальної кількості досліджуваних штамів) було оцінено як низьку (рівень її становив 4,69 ± 0,15 і 4,76 ± 0,18 анти-C^1H_{50}), 5-ти штамів (7,4 %) – як середню (від 5,37 ± 0,02 до 5,92 ± 0,03 анти-C^1H_{50}).

Дослідження наявності АКА штамів лактобацил, проведені через 18 місяців після їх виділення з природного середовища, показали, що за умов довгострокового зберігання на середовищі MRS усі штами лактобацил втратили здатність інактивувати комплемент в гемолітичній системі (рис. 1).

Як видно з наведених результатів, клітини штамів лактобацил мали здатність знижувати активність комплементу в гемолітичній системі. Однак частка штамів, здатних до інактивації комплементу через 6 місяців після виділення з природного середовища, була незначною (11,6 %), і більшість із них демонстрували низький та середній рівень АКА. Через 18 місяців після виділення з природного середовища у всіх штамів лактобацил спостерігалася повна втрата антикомплементарних властивостей. Схо-

жий ефект описано в літературі для виробничого штаму Bacillus cereus IP 5832, який протягом адаптації до ростового середовища поступово знижував АКА, і згодом її зовсім втратив [1]. Отримані нами дані свідчать про індуцибельну природу антикомплементарної ознаки у лактобацил, яка в лабораторних умовах втрачається.

Таблиця 1

Антикомплементарна активність штамів лактобацил

Ступінь АКА	Штам	Рівень АКА, анти-C^1H_{50}
Низький	*Lactobacillus sp.* 17	4,69 ± 0,15
	Lactobacillus sp. 291	4,76 ± 0,18
Середній	*Lactobacillus sp.* 275	5,37 ± 0,02
	Lactobacillus sp. 1005	5,37 ± 0,02
	Lactobacillus sp. 202	5,38 ± 0,05
	L. gasseri AO 11	5,87 ± 0,07
	Lactobacillus sp. 925	5,92 ± 0,03
Високий	*L. helveticus* ATCC 15009	22,15 ± 0,67

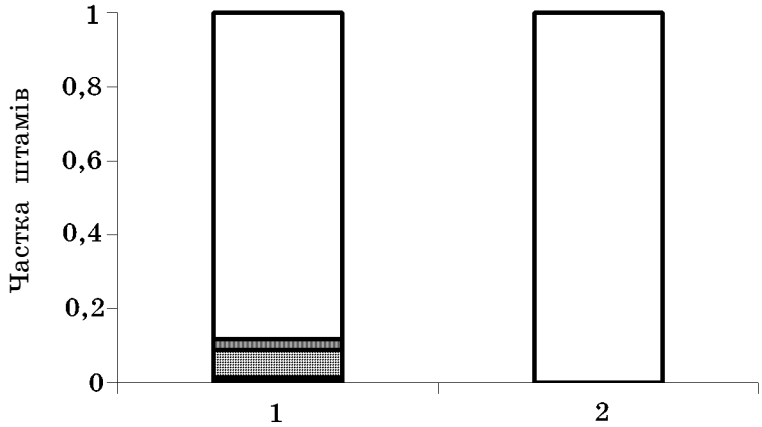


Рис. 1. Антикомплементарна активність штамів лактобацил через 6 місяців (1) і 18 місяців (2) після виділення.

– штами з високим рівнем АКА

– штами з середнім рівнем АКА

– штами з низьким рівнем АКА

– штами з нульовим рівнем АКА

Як відомо, окрім продукції антидефенсинів, для усіх штамів, здатних персистувати всередині макроорганізму, одним з найважливіших показників є здатність до цитоадгезії. Тому дуже важливо зіставити показники адгезивності та антикомплементарної активності. За результатами наших попередніх досліджень [10], штами лактобацил, які були здатними інактивувати комплемент в гемолітичній системі, мали також високі показники адгезії. Дані про адгезивні властивості досліджуваних штамів наведено в табл. 2.

Таблиця 2

Здатність до цитоадгезії досліджуваних штамів лактобацил

Штам	Середній показник адгезії (СПА)
Lactobacillus sp. 17	4,94 ± 0,40
Lactobacillus sp. 291	7,52 ± 0,35
Lactobacillus sp. 275	5,60 ± 0,53
Lactobacillus sp. 1005	6,32 ± 0,43
Lactobacillus sp. 202	7,08 ± 0,47
L. gasseri AO 11	4,32 ± 0,36
Lactobacillus sp. 925	4,40 ± 0,46
L. helveticus ATCC 15009	4,60 ± ,028

Як видно з даних таблиці, всі штами, здатні інактивувати комплемент, для персистенції в макроорганізмі використовували також адгезивну функцію. АКА для них могла відігравати додаткову роль у здатності до тривалого знаходження всередині макроорганізму.

Нездатність лактобацил інактивувати лізоцим та поступова втрата здатності деяких штамів інактивувати комплемент свідчить про відсутність можливої імунодепресивної дії даних штамів та про незначну роль АЛА і АКА в персистенції лактобацил всередині організму людини.

Роботу виконано в рамках проекту, підтриманого Грантом Президента України № 16 для обдарованої молоді.

Література:

1. *Брудастов Ю. А., Валышев А. В., Брудастов А. Н.* Антикомплементарная активность производственного штамма Bacillus cereus IP 5832 и энтеробактерий при их совместном культивировании // Журн. микробиол. — 1996. — № 3. – С. 91 – 93
2. *Бухарин О. О.* Биомедицинские аспекты персистенции бактерий // Журн. микробиол. – 1994. — № 4 (приложение). – С. 4 – 13.
3. *Бухарин О. В., Немцева Н. В., Ананьина Г. Е., Сидоров В. В.* Антилизоцимная активность внутриклеточно паразитирующих бактерий. В сборнике трудов: Факторы естественного иммунитета при различных физиологических и патологических состояниях. Тезисы докладов к VIII зональной научной конференции. – Вып. 9. – Челябинск, 1984. – 180 с.

4. *Брудастов Ю. А.* Антикомплементарная активность бактерий. Автореф. дис. канд. мед. наук. – Челябинск, 1992. – 32 с.
5. *Hawiger J.* Frequency of staphylococcal lysozyme production tested by plate mehtod. // J. Clin. Path. – 1968. – V. 21. - № 3. – P. 390 – 393.
6. *Бухарин О. В., Васильев Н. В.* Лизоцим и его роль в биологии и медицине. Томск, 1974. – 212 с.
7. Бухарин, Валышев, Елагина, Иванов, Черкасов. Фотометрическое определение антилизоцимной активности // Журн. микробиол. – 1997. – № 4. – С. 117 – 120.
8. *Ленцнер А. А., Ленцнер Х. П., Тоом М. А.* О способности лактобацилл микрофлоры человека продуцировать лизоцим // Журн. микробиол. – 1975. - № 8. – С. 77 – 81.
9. *Иммунология*: Практикум / Е. У. Пастер, В. В. Овод, В. К. Позур, Н. Е. Вихоть. – К.: Выща шк. Изд-во при Киев. Ун-те, 1989. – 304 с.
10. *Кур'ята Н. В.* Адгезивні та гемаглютинуючі властивості лактобацил // Біорізноманіття природних і техногенних біотопів України: Матеріали Всеукраїнської конференції студентів, аспірантів та молодих вчених (19 – 22 листопада 2001 р.). –Ч. II. – Донецьк: ДонНУ, 2001. – С. 24 – 27.

Н. В. Курьята, Н. А. Елинская
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра микробиологии и вирусологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

СПОСОБНОСТЬ ШТАММОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ ПРОДУЦИРОВАТЬ АНТИДЕФЕНСИНЫ

Резюме

Исследовали способность штаммов лактобацилл, выделенных из пищеварительного тракта детей, и коллекционных штаммов продуцировать антидефенсины. Установлено, что ни один штамм лактобацилл не был способен инактивировать лизоцим. У 11,8 % штаммов лактобацилл, которые сохранялись 6 месяцев, выявлена антикомплементарная активность (АКА), установлен её уровень. Показано, что при сохранении в течение 18 месяцев все штаммы лактобацилл утрачивали АКА.

Ключевые слова: лактобациллы, антидефенсины, лизоцим, комплемент

N. V. Kuryata, N. O. Yelynska
Odessa I. I. Mechnikov National University,
Department of Microbiology and Virology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

THE ABILITY OF LACTOBACILLI STRAINS TO ANTI-DEFENCIN PRODUCITON

Summary

The ability to anti-defencin production of intestinal and collection strains of lactobacilli was investigated. It has been shown that no lactobacilli strain was capable to lysozyme inactivation. In 11,8 % lactobacilli strains being preserved for 6 months anti-complement activity (ACA) has been found, its level has been determined. It has been shown that within 18 months all the strains of lactobacilli lost their ACA.

Key words: lactobacilli, anti-defencins, lysozyme, complement.

УДК 616.98:579.842.14]-092.9-085.332-035.1

С. В. Медінець, асп.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра мікробіології і вірусології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ЧУТЛИВІСТЬ ШТАМУ *SALMONELLA ENTERITIDIS VAR. ISATCHENKO* ДО АНТИБІОТИКІВ, ІНТЕРФЕРОНУ ТА АМІКСИНУ

Вивчено чутливість штаму *Salmonella enteritidis var. Isatchenko* до 31 антибіотика, інтерферону та аміксину. Установлено, що даний штам найбільш чутливий до беталактамних та аміноглікозидних антибіотиків останніх поколінь. Простежувалася залежність "концентрація-ефект" при додаванні у середовище інтерферону. Низькомолекулярний індуктор інтерферону аміксин не виявляє інгібуючої дії на ріст культури мікроорганізму.
Ключові слова: *Salmonella enteritidis*, антибіотики, інтерферон, чутливість.

На даному етапі розвитку медицини і фармакології з'явилася складна проблема, пов'язана з антибіотикорезистентністю мікроорганізмів. Найбільш стійкими є збудники захворювань органів черевної порожнини, в основному грамнегативні бактерії, які легко обмінюються плазмідами [1, 2, 3]. Одну із лідируючих позицій займає рід *Salmonella*, представники якого викликають гострі кишкові інфекції, які особливо важко перебігають у новонароджених та дітей молодшого віку і призводять до порушення всіх видів обміну в організмі, вираженого ендотоксикозу, сенсибілізації організму мікробними антигенами, зниження імунореактивності [1, 3, 4, 5, 6].

Традиційні методи антибактеріальної терапії часто виявляються неефективними [1, 5], що робить актуальною розробку принципово нових підходів. Дані про наявність антибактеріальної складової у різних класів інтерферонів [7, 8, 9] дають підстави для вивчення антимікробної активності як самого інтерферону, так і його низькомолекулярних індукторів. У зв'язку з цим метою роботи було порівняльне вивчення чутливості штаму *Salmonella enteritidis var. Isatchenko* до різних антибіотиків, препарату інтерферону та аміксину.

Матеріали і методи

З'ясували чутливість штаму *Salmonella enteritidis var. Isatchenko* до 31 антибіотику: амікацину, ампіциліну, амфотерицину, бензилметилу, ванкоміцину, гентаміцину, імпенему, канаміцину, кліндаміду, лінкоміцину, неоміцину, оксациліну, олеандомицину, пеніциліну, поліміксину, сизоміцину, стрептоміцину, тетрацикліну, фурагіну, фурадоніколу, фузидину, цефазоліну, цефалотину, цефіксину, цефокситину, цефолексину, цефотаксину, цефриакстнолу, цефтизидину, еритроміцину і метилмідазолу [1, 5, 10].

© С. В. Медінець, 2003

Спектр антибіотикорезистентності визначали дискдифузійним методом з використанням середовища МПА (м'ясо-пептоний агар) [3, 11, 12]. У залежності від розміру зони затримки росту культуру відносили до чутливої, помірно чутливої або стійкої до дії даного антибіотика.

Контроль якості середовища та дисків з антибіотиками здійснювали шляхом вимірювання діаметрів зон затримки росту у еталонних штамів мікроорганізмів – *Staphylococcus aureus ATCC 25923* і *Escherichia coli ATCC 25922* [13].

При визначенні антимікробної активності інтерферону, виготовленого в Харкові, та аміксину, люб'язно наданого СП "Інтерхім", використовували метод двократних серійних розведень [11, 12]. Робили змив добової культури *Salmonella enteritidis*. Густину змиву визначали за стандартом мутності ГКІ №10 і потім розводили 0,9% розчином NaCl до потрібної концентрації. У пробірки, що містили по 1 мл середовища Гісса, додавали по 0,2 мл суспензії мікроорганізмів, а потім по 50 мкл розчину відповідного препарату. У досліді було використано 10 концентрацій препарату інтерферону: 0,75; 1,5; 3; 5; 6; 8; 10; 12,5; 25; 50 МО та 5 концентрацій аміксину: 100, 200, 400, 500, 750 мкг/мл. Для кожного варіанту використовували 5 повторностей. Інкубували 24 години при 37°С. Облік результатів здійснювали спектрофотометрічно при довжині хвилі 540 нм [12].

Результати і їх обговорення

З'ясувалося, що штам *Salmonella enteritidis var. Isatchenko* є чутливим до амікацину, ампіциліну, гентаміцину, імпенему, канаміцину, неоміцину, сизоміцину, стрептоміцину, фурагіну, фурадониколу, цефазоліну, цефалотину, цефотаксину, цефриаксонолу, цефіксину и метилмідазолу. Разом з тим штам виявив резистентність до наступних антибіотиків: амфотерицину, ванкоміцину, кліндаміду, лінкоміцину, оксациліну, олеандоміцину, пеніциліну, тетрацикліну, фузидину, еритроміцину. До решти антибіотиків спостерігалася помірна чутливість (табл. 1).

Аналізуючи наведені вище результати, можна зазначити, що найбільшу активність по відношенню до досліджуваного штаму сальмонел мають беталактамні та аміноглікозидні антибіотики третього та другого поколінь. Можна припустити, що стійкість до більшості використаних нами антибіотиків обумовлюється плазмідами резистентності [1, 4, 14]. Нескладно помітити, що стійкість у даного штаму виявилася в основному до тих антибіотиків, які найбільш широко використовуються як кормові додатки в сільському господарстві, а також як лікувальні препарати при різних захворюваннях [1, 4].

Як видко з рис. 1, за прямої дії інтерферону на чисту культуру мікроорганізму спостерігається чітка залежність „концентрація – ефект". Мінімальна інгібуюча концентрація препарату знаходилася в діапазоні 8 – 10 МО. У всіх варіантах при концентраціях вище 10 МО відзначалося повне пригнічення росту мікроорганізму. У концентраціях від 5 до 50 МО в усіх

випадках спостерігалася достовірна зміна показників. Менші концентрації інтерферону (0,75 – 3 МО/мл) викликали лише незначне пригнічення росту *Salmonella enteritidis var. Isatchenko.*

Таблиця 1

Чутливість штаму *Salmonella enteritidis var. Isatchenko* до антибіотиків

Антибіотик	Ø зони, мм	Результат	Антибіотик	Ø зони, мм	Результат
Амікацин	18	S	Стрептоміцин	20	S
Ампіцилін	21	S	Тетрациклін	6	R
Амфотерицин	6	R	Фура гін	20	S
Бензилметил	15	GS	Фурадонікол	17	S
Ванкоміцин	6	R	Фузидин	6	R
Гентаміцин	21	S	Цефазолін	24	S
Імпенем	27	S	Цефалотин	25	S
Канаміцин	18	S	Цефокситин	15	GS
Кліндамід	6	R	Цефолексин	17	GS
Лінкоміцин	6	R	Цефотаксин	25	S
Неоміцин	20	S	Цефриаксонол	30	S
Оксацилін	6	R	Цефіксин	25	S
Олеандоміцин	6	R	Цефтизидин	15	GS
Пеніцилін	6	R	Еритроміцин	6	R
Поліміксин	10	GS	НИЦ Метилмідазол	20	S
Сизоміцин	21	S			

Примітка: R – резистентний, S – чутливий, GS – помірно чутливий.
Діаметр диска з антибіотиком близько 5-6 мм

На жаль, до останнього часу немає переконливих даних про механізми дії інтерферону на бактеріальні клітини. Однак ця проблема, поза всяким сумнівом, викликає інтерес і потребує подальшого вивчення [15].

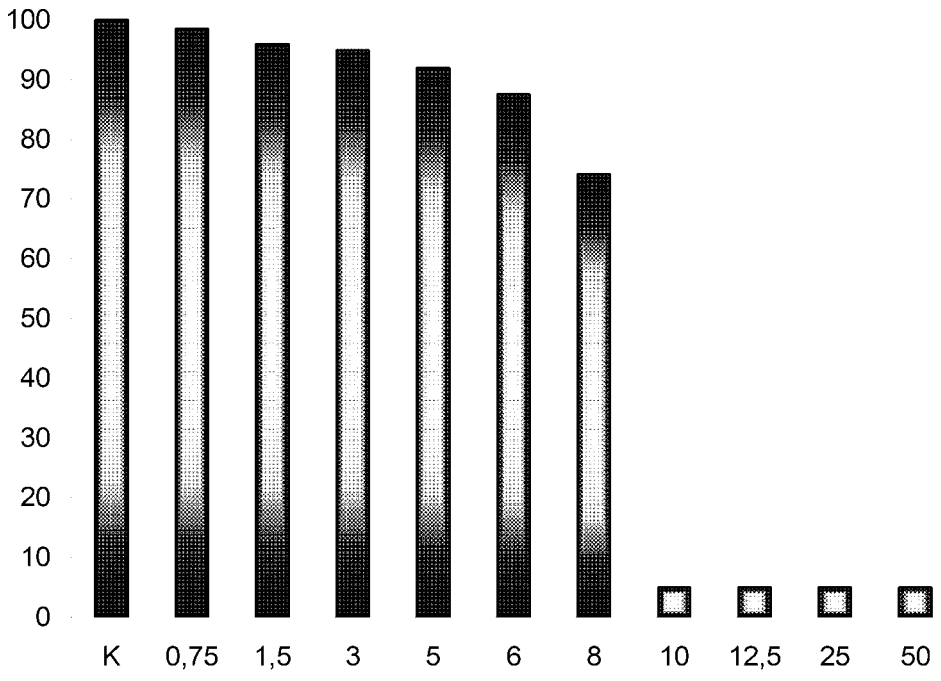


Рис. 1. Вплив різних концентрацій інтерферону на ріст *Salmonella enteritidis var. Isatchenko*

По осі ординат – інтенсивність росту бактерій, %; По осі абсцис – концентрація препарату, МО. К – контроль.

Аміксин, який належить до групи низькомолекулярних індукторів інтерферону, не впливав на інтенсивність росту *Salmonella enteritidis var. Isatchenko*.

Як відомо, основною проблемою терапії інфекційних захворювань є розвиток стійкості до того чи іншого препарату під час курсу лікування. За цей період мікроорганізми повністю адаптуються до лікарського засобу і більше не реагують на нього. Особливо гостро ця проблема стоїть у відношенні інфекцій черевної порожнини. Основним і найбільш швидким механізмом розвитку стійкості бактерій є включення в клітину R-плазмід, які містять гени антибіотикорезистентності. Здатність структурних аналогів аміксину елімінувати плазміди резистентності із бактеріальних клітин дозволяє припустити, що застосування індукторів інтерферону допоможе підвищити ефективність антибіотикотерапії [15]. Тому є доцільним вивчення протимікробної активності аміксину в комбінації з традиційними антибіотиками in vivo.

Висловлюємо глибоку вдячність к. б. н. Багаєвій Олімпіаді Сергіївні за надання штаму мікроорганізму.

Література

1. *Зубов Л. А., Богданов Ю. М.* Современные проблемы антибиотикорезистентности в педиатрической клинике // Антибиотики и химиотерапия. – 1998. – 43, № 4. – С. 43 – 49.
2. *Пак С. Г., Турьянов М. Х., Пальцев М. А.* Сальмонеллез. – М.: Медицина, 1988. – 232 с.
3. *O'Brien T. F.* Epidemic nature of antimicrobial resistence and the need to monitor and manage it locally // Clin. Infect. Deseases. – 1997. – V. 24, Suppl. 1. – P. 2 – 10.
4. *Авдєєва Л. В.* Чутливість до антибіотиків мікроорганізмів, виділених від новонароджених // Мікробіол. журн., 2000. – Т. 62, № 3. – С. 43 – 47.
5. *Белокрысенко С. С., Парфенюк Р. Л.* Микробиологический контроль за лекарственной устойчивостью возбудителей гнойно-септических инфекций новорожденных детей // Антибиотики и химиотерапия. – 1990. – Т. 35, № 5. – С. 21 – 24.
6. *Мартыненко Л. Д., Шепелов А. П.* Патогенетические основы химиотерапии экспериментальной сальмонеллезной инфекции // Антибиотики и химиотерапия. – 1991. – Т. 36, № 6. – С. 38 – 41.
7. *Барам Н. И., Пайзиева Р. З., Исмаилов А. И.* // Природные полифенолы и их производные – противовирусные препараты и индукторы интерферона. – Ташкент: Здоровье, 1981. – С. 123 – 128.
8. *Вядро М. М.* Интерферон и его индукторы // Антибиотики и химиотерапия. – 1990. – Т. 35, № 9. – С. 1 – 66.
9. *Сайиткулов А. М., Ершов Ф. И.* Зависимость интерферонидуцирующей активности природных индукторов интерферона от их химической структуры // Антибиотики и химиотерапия. – 1991. – Т. 36, № 7. – С. 39 – 42.
10. *Rahal K., Wang Fu, Schindler J.* Reports on surveillance of antimicrobial resistence in individual countries: Pap. WHO Symp. "Monitor. and Manag. Bact. Resist. Antimicrob. Agents", Geneva, 29 Nov. – 2 Dec. 1994 // Clin. Infect. Disease. – 1997. – V. 24, Suppl. 1. – P. 169 – 175.
11. *Приказ* №535 МЗ СССР: Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений. Приложение 1. – М., 1985.
12. *Справочник* по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М. О. Биргера. – М.: Медицина, 1973. – С. 174 – 180.
13. *Серия* клинических докладов ВОЗ, № 673. – Женева, 1984. – С. 167 – 169.
14. *Амитина Н. Н., Тазулахова Э. Б., Ершов Ф. И.* Чувствительность кишечной микрофлоры к антибиотикам // Антибиотики. – 1985. № 1. – С. 16 – 19.
15. *Франклин Т., Сноу Дж.* Биохимия антимикробного действия. – М.: Мир, 1984. – 238 с.
16. *Самгин М. А., Баринский И. Ф., Душанбиева С. И.* Индукторы интерферона. – М.: Медицина, 1982. – С. 162 – 166.

С. В. Мединец
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра микробиологии и вирусологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ШТАММА *SALMONELLA ENTERITIDIS VAR. ISATCHENKO* К АНТИБИОТИКАМ, ИНТЕРФЕРОНУ И АМИКСИНУ

Резюме

Изучена чувствительность штамма *Salmonella enteritidis var. Isatchenko* к 31 антибиотику, интерферону и амиксину. Установлено, что данный штамм наиболее чувствителен к беталактамным и аминогликозидным антибиотикам последних поколений. Прослеживалась зависимость "концентрация-эффект" при добавлении в среду интерферона. Низкомолекулярный индуктор интерферона амиксин не оказывал подавляющего действия на культуру микроорганизма.

Ключевые слова: *Salmonella enteritidis*, антибиотики, интерферон, чувствительность.

S. V. Medinets
Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Microbiology and Virology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

SUSCEPTIBILITY OF *SALMONELLA ENTERITIDIS VAR. ISATCHENKO* STRAIN TO ANTIBIOTICS, INTERFERON AND AMIXIN

Summary

The strain of Salmonella enteritidis var. Isatcnenko was studied concerning its susceptibility to 31 antibiotics, interferon and amixin. There was found that this strain was more susceptible to betalactamic and the last generation of aminoglycoside antibiotics. By adding interferon the dependence of concentration-effect was observed. Low-molecular interferon inductor amixin has not had any inhibitory influence upon microorganism culture.

Key words: *Salmonella enteritidis*, antibiotics, interferon, susceptibility.

УДК 615.275.4.015.4

О. В. Нікітін, асп.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра фармацевтичної хімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ПРОТИЗАПАЛЬНА ДІЯ НОВОЇ КООРДИНАЦІЙНОЇ СПОЛУКИ ГЕРМАНІЮ З ГІДРАЗИДОМ ІЗОНІКОТИНОВОЇ КИСЛОТИ

Вивчено вплив координаційної сполуки германію з гідразидом ізонікотинової кислоти ($GeCl_4$*4ГІНК) та його ліганду – гідразиду ізонікотинової кислоти (ГІНК) на антиексудативну активність. Показано, що сполука $GeCl_4$*4ГІНК володіє найбільш вираженою протизапальною активністю через 90 хв. після введення зимозану.
Висловлено припущення, що сполука $GeCl_4$*4ГІНК при запальному процесі є інгібітором ліпоксигеназного шляху перетворення арахідонової кислоти. Що стосується ГІНК, то дана речовина значного фармакологічного ефекту не виявила.
Ключові слова: германій, координаційні сполуки, протизапальна активність

Сучасні нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) завдяки дуже важливим біологічним ефектам – інгібуванню біосинтезу простагландинів (ПГ), спроможності виражено пригнічувати ексудацію і проліферацію - викликають значний інтерес дослідників, які займаються вивченням механізмів дії і пошуком нових НПЗЗ.

Виходячи з характеристики (хімічної структури та властивостей) найбільш активних НПЗЗ: індометацину, диклофенака-натрію, піроксикаму та бутадіону, можна вважати, що ці препарати пригнічують ексудацію, гіпертермію, практично не впливають на протікання альтернативного запального процесу, є ненаркотичними анальгетиками. Проте всі вони виявляють виражену ульцерогенну, гепатотоксичну дію, несприятливо впливають на процеси метаболізму у міокарді, суглобовому хрящі [1]. Ці прояви дії НПЗЗ, як позитивні, так і негативні, є наслідком їх основного механізму дії - впливу на ПГ.

Як було зазначено, при тривалому застосуванні сучасних НПЗЗ – інгібіторів циклооксигенази (ЦОГ) серед зазначених негативних властивостей найчастіше виявляється порушення трофіки слизової оболонки шлунка. Механізм цієї побічної дії НПЗЗ пов'язаний з порушенням метаболізму арахідонової кислоти в бік підсиленого утворення лейкотрієнів – продуктів її ліпоксигеназного перетворення. Згідно з сучасними уявленнями простагландини групи Е інтенсифікують мікроциркуляцію крові у слизовій оболонці, тим самим покращують трофіку, у той час як лейкотрієнів відносять до агресивних факторів.

© О. В. Нікітін, 2003

У зв'язку з цим одним із найбільш сучасних підходів при проведенні скринінгу є пошук речовин-інгібіторів ліпоксигеназного шляху перетворення арахідонової кислоти.

Існує припущення, що розуміння ролі координаційних сполук у біосистемах може послужити ключем до створення нових класів ефективних лікарських засобів [2]. При вивченні дії координаційних сполук металів на організм тварин і людини виявилося, що у цьому випадку спостерігається не тільки зменшення токсичності металу, але й посилення біоефекту всіх складових – і біоліганду, і металу [3]. Особливий інтерес як біоліганди становлять природні метаболіти (вітаміни, амінокислоти, пептиди). Підбираючи метали і ліганди, можна створити речовини з направленою специфічною активністю і мінімальною токсичністю.

Ці принципи і були покладені в основу створення нової біологічно активної речовини – координаційної сполуки германію з гідразидом ізонікотинової кислоти . Германій був обраний не випадково; його сполуки відрізняються високою фармакологічною активністю і відносно низькою токсичністю [4]. Доведено, що різні сполуки германію мають протизапальні, антибактеріальні, антивірусні, протисудомні та інші властивості [5, 6].

Метою дослідження було вивчення впливу на антиексудативну активність координаційної сполуки германію з гідразидом ізонікотинової кислоти ($GeCl_4$*4ГІНК) та самого біоліганду – гідразиду ізонікотинової кислоти (ГІНК).

Матеріали та методи

Дослідження проводили на білих безпородних мишах масою 15 – 26 г з модельованим гострим асептичним запаленням, індукованим зимозаном. У ролі НПЗЗ були використані: координаційна сполука германію з гідразидом ізонікотинової кислоти ($GeCl_4$*4ГІНК) та біоліганд – гідразид ізонікотинової кислоти (ГІНК), яких вводили одноразово внутрішньошлунково за 1 годину до субплантарного введення зимозану в дозах 0,1 мл на одну тварину у вигляді 2% суспензії. Антиексудативну активність речовин, що вивчалися, визначали за товщиною стоп. Товщина стоп вимірювалася через 0,5; 1; 1,5; 2 години після введення зимозану [7]. Отриманні результати опрацьовували методами варіаційної статистики з використанням критеріїв Фішера-Ст'юдента [8], застосовуючи програму Excel-97.

Результати та їх обговорення

Отримані результати свідчать (рис. 1), що деякий час після введення зимозану досліджувані речовини істотного впливу на антиексудативну активність не виявляли. Про це говорить той факт, що протягом перших 30 хв. після введення зимозану відбувається інтенсивне утворення набряку.

Аналіз результатів, отриманих через 60 хв. після введення зимозану, свідчить про певні прояви фармакологічного ефекту досліджуваних речовин.

Найбільш виражений ефект виявила сполука $GeCl_4$*4ГІНК через 90 хв. після введення зимозану, в той час як ГІНК у даний строк досліду був менш ефективним.

Через 120 хв. після введення зимозану спостерігається зменшення фармакологічної активності досліджуваних речовин.

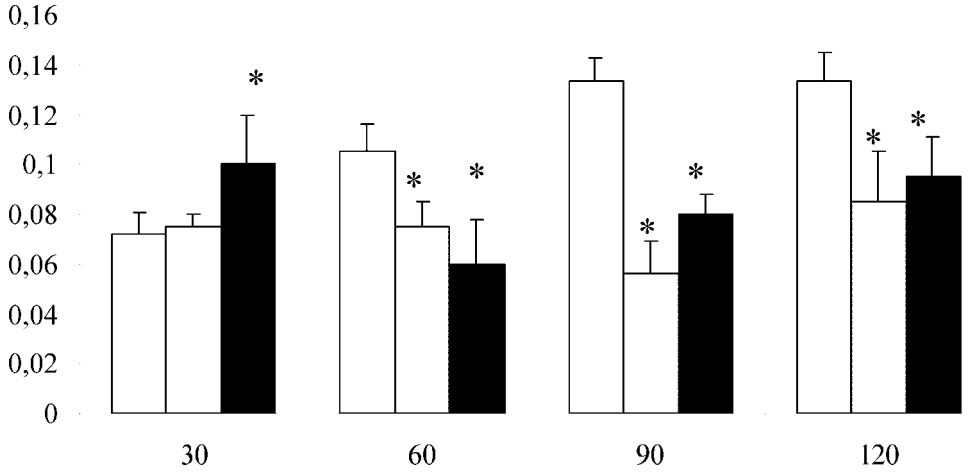


Рис. 1. Протизапальна дія досліджуваних речовин у динаміці
по осі ординат – товщина стоп, мм; по осі абсцис – час, хв
□ — контроль+зимозан, ≣ — $GeCl_4$*ГІНК, ■ — ГІНК, * — $p<0,05$ у порівнянні з контролем

Таким чином, при вивчені антиексудативного ефекту координаційної сполуки $GeCl_4$*4ГІНК та ГІНК було виявлено, що найбільш вираженою протизапальною активністю володіє сполука $GeCl_4$*4ГІНК через 90 хв. після введення зимозану. Можна припустити, що ця сполука при запальному процесі є інгібітором ліпоксигеназного шляху перетворення арахідонової кислоти. У зв'язку з цим доцільно подальше вивчення цієї сполуки. Що стосується ГІНК, то дана речовина значного фармакологічного ефекту не виявила.

Література

1. *Чекман И. С.* Осложнения фармакотерапии. – К.: Здоров'я, 1980. – 235 с.
2. *Кукушкин Ю. Н.* Соединения высшего порядка. – Л.: Химия, 1991. – 110 с.
3. *Акбаров А. Б., Харитонов Ю. Я., Исламов М. Н.* // Журн. неорг. хим. – 1993. – Т. 38, №2. – С. 312 – 326.
4. *Шемонаєва К. Ф., Кресюн В. Й., Сейфуліна І. Й., Щербаков С. В.* Фармакокінетична характеристика координаційної сполуки германію з нікотинамідом // Клінічна фармація, 2001. – Т. 5, №3. – С. 53 – 56.
5. *Лукевиц Э. Я., Гар Т. К., Игнатович Л. М., Миронов В. Ф.* Биологическая активность германия. – Рига: Зинатне, 1990. – 191 с.

6. *Pat*. 45-216722 Japan (1997). Organogermanium compaunds / Kakimoto N. – C. A. – 1997. – Vol. 48.
7. *Gado K., Gigler G.* Zymosan inflamation: A new method suitable for evaluating new antiinflammatury drugs // Agents and Actions. – 1991. – V. 32, №1 – 2. – P. 119 – 121.
8. *Ракицкий П. Ф.* Биологическая статистика. – М.: Высшая школа, 1973. – 320 с.

А. В. Никитин
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра фармакологической химии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ НОВОГО КООРДИНАЦИОННОГО СОЕДИНЕНИЯ ГЕРМАНИЯ С ГИДРАЗИДОМ ИЗОНИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Резюме
Изучено влияние координационного соединения германия с гидразидом изоникотиновой кислоты ($GeCl_4$*4ГИНК) и его лиганда гидразида изоникотиновой кислоты (ГИНК) на антиэксудативную активность. Показано, что соединение $GeCl_4$*4ГИНК обладает наиболее выраженной противовоспалительной активностью через 90 мин после введения зимозана. Высказано предположение, что соединение $GeCl_4$*4ГИНК при воспалительном процессе является ингибитором липоксигеназного пути превращения арахидоновой кислоты. Что касается ГИНК, то данное вещество значительного фармакологичного эффекта не показало.

Ключевые слова: германий, координационные соединения, противовоспалительная активность.

O. V. Nikitin
Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Pharmacological Chemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

ANTIINFLAMMATORY ACTIVITY OF NEW COORDINATING COMPOUND OF GERMANIUM WITH ISONICOTINIC ACID HYDRAZIDE

Summary
The influence of coordinating compound of Germanium with isonicotinic acid hydrazide on the anti-exudative activity has been studied. It was shown that the combination of Germanium with isonicotinic acid hydrazide had the most expressed activity in 90 min after introduction of zymosan. It is supposed that the compound of Germanium with isonicotinic acid hydrazide at inflammation is an inhibitor of li poxygenase pathway of arachidonic acid cascade.

Key words: germanium, coordinating compounds, anti-inflammatory activity.

УДК 615.322

О. Л. Рахімова[1], асист., **Л. В. Азарова**[2], зав. відділом, **В. Е. Рижко**[2], мол. наук. співроб., **І. М. Чеснокова**[2], спец.
Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова,
[1] каф. мікробіології та вірусології,
[2] Ботанічний сад ОНУ,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ СОКІВ ДЕЯКИХ ОРАНЖЕРЕЙНИХ РОСЛИН

Досліджували антимікробні властивості восьми оранжерейних рослин Ботанічного саду ОНУ. Показано, що найбільш широким спектром антимікробної активності стосовно досліджених референтів-штамів володіє *Diffenbachia seguina*. Ріст грампозитивних штамів *Micrococcus luteus* і *Bacillus subtilis* найбільш істотно пригнічувався соком *Diffenbachia seguina*, а *Staphylococcus aureus* - *Kalanchoe daigremontiana*. *Diffenbachia seguina* і *Opuntia monocantha* максимально гнітили ріст грамнегативних штамів *Proteus vulgaris* і *Escherichia coli* відповідно. Ріст дріжджеподібних грибків *Candida albicans* найбільш виразно інгібувався екстрактом *Diffenbachia seguina*. З'ясовано, що соки *Cyclamen persicum* і *Cyclamen europeum* викликають появу зон як з повною відсутністю росту референтів-штамів, так і зі зниженою кількістю біомаси.
Ключові слова: антимікробна дія, оранжерейні рослини

Повсюдне, часом безконтрольне і нераціональне використання антибактеріальних препаратів веде до збільшення кількості антибіотикорезистентних бактерій, зниженню ефективності антибіотикотерапії, виникненню спалахів інфекції, зокрема, внутрілікарняних [1, 2].

Зазначеним пояснюється незгасаючий інтерес дослідників до виявлення рослин, що володіють антимікробною активністю. Актуальним є вивчення біохімічних носіїв цієї активності, спектра дії цих сполук на мікроорганізми і наукове обгрунтування можливості використання препаратів, отриманих із рослин з метою підвищення резистентності організму людини до чинників зовнішнього середовища.

Протягом ряду років співробітники ботанічного саду вивчали фітонцидну активність декоративних рослин відкритого і закритого ґрунту з колекційних фондів, використовуваних за озеленення внутрішніх приміщень різного призначення. Було з'ясовано, що під впливом багатьох досліджуваних рослин загальна кількість мікроорганізмів у навколишньому повітрі зменшується [3].

Підвищений попит на деякі види оранжерейних рослин, що володіють лікарськими властивостями, обумовив наш інтерес у проведенні додаткових досліджень по визначенню антимікробної активності соків із різних органів цих рослин.

© О. Л. Рахімова, Л. В. Азарова, В. Е. Рижко, І. М. Чеснокова, 2003

Матеріал і методи дослідження

Об'єктами досліджень були листи і стебла діффенбахії сегуїна (*Diffenbachia seguina* Schott.) і опунції одноколючкової (*Opuntia monocantha* Haw.); листи агави американської (*Agave americana* L.), алое деревовидного (*Aloe arborescens* Mill), каланхое пір'ястого (*Kalanchoe pinnata* (Lam) Peerson.), каланхое Дегремонта (*Kalanchoe daigremontiana* Hamet et Perr.), окремо листи і бульби цикламена перського (*Cyclamen persicum* Mill.) і цикламена європейського (*Cyclamen europeum* L.). Досліджували також цибулини часнику посівного (Allium sativum L.) і цибулі ріпчастої (Allium cepa L.), які загальновідомі своїми антимікробними властивостями. Результати дослідів з цими двома об'єктами правили за контроль (контролі 1 і 2). Для одержання соків попередньо продезинфіковані рослинні тканини асептично подрібнювали механічним способом і віджимали через стерильну марлю.

Для визначення антимікробного впливу соків досліджуваних рослин використовували модифікований нами метод дифузії із лунок в агаровому гелі [4]. Газон тест-штаму отримували на поверхні агарової пластинки. В лунки вносили щойно отриманий із рослинних об'єктів сік (або стерильну дистильовану воду – в контролі 3) об'ємом 0,2 мл. Чашки інкубували, не перевертаючи. Для запобігання розмиванню зон відсутності росту конденсатом чашки накривали стерильними паперовими ковпачками. Для дослідження модифікуючого впливу крові на антибактеріальну дію соків рослин до середовища асептично додавали 5 % дефібринованої крові.

Тест-штамами для вияву антимікробного впливу служили референт-штами з колекції мікроорганізмів кафедри, які використовуються для визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків: *Escherichia coli* ATCC 25922; *Candida albicans* ATCC 18804; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Micrococcus luteus* ATCC 4698; *Bacillus subtilis* ATCC 6633; *Proteus vulgaris* ATCC 6896, а також клінічний штам *S. aureus*, що володіє множинною стійкістю до антибіотиків і був люб'язно наданий нам бактеріологічною лабораторією дитячої обласної клінічної лікарні м. Одеси.

За порівняння антибактеріальної активності рослинних препаратів використовували розчин бензилпеніциліну у концентрації 6 мкг/мл – контроль 4.

Облік результатів здійснювали через 24 години інкубації при 37° С. Усі досліди провадили в п'яти повторностях. Визначали довірчий інтервал при 95 % рівні імовірності [5].

Результати й обговорення

Результати вивчення антимікробного впливу соків досліджуваних рослин наведено у таблиці 1.

Практично всі рослини виявили антибактеріальні властивості як проти грампозитивних (*S. aureus, M. luteus, B. subtilis*) і грамнегативних (*E. coli, P. vulgaris*) бактерій, так і проти дріжджеподібних грибків (*C. albicans*). Слабкий прояв антибактеріальних властивостей ряду рослин, добре відо-

мих своєю антибактеріальною активністю, ми пов'язуємо зі слабкою дифузією їх активних сполук крізь агар. Слід зазначити, що в таблиці 1 наведено розміри зон повної відсутності росту тест-штамів, однак гноблення росту і зниження кількості біомаси спостерігалося в набагато більших за діаметром зонах.

Таблиця 1

Прояв антагоністичного впливу соків рослин на тест-штами мікроорганізмів у вигляді зон затримки росту (мм)

Рослини	Тест-штами					
	E. coli	C. albicans	*S. aureus*	*M. luteus*	*B. subtilis*	*P. vulgaris*
Діффенбахія (лист і стебло)	3,0±0,1	4,0±0,2	4,0±0,1	5,0±0,2	4,0±0,1	1,0±0,1
Опунція (лист і стебло)	6,0±0,2	6,0±0,2	4,0±0,2	3,0±0,2	2,0±0,1	0,0
Агава (лист)	3,0±0,1	5,0±0,2	2,0±0,1	1,0±0,1	2,0±0,1	0,0
Алое (лист)	2,0±0,1	1,0±0,1	2,0±0,1	4,0±0,1	3,0±0,1	0,0
Каланхое перисте (лист)	2,0±0,1	3,0±0,2	5,0±0,3	4,0±0,2	1,0±0,1	0,0
Каланхое Дегремонта (лист)	3,0±0,1	2.0±0,1	6,0±0,3	3,0±0,1	2,0±0,1	0,0
Цикламен перський (бульба)	2,0±0,2	5,0±0,3	4,0±0,2	4,0±0,2	2,0±0,1	0,0
Цикламен европейський (бульба)	1,0±0,1	4,0±0,3	3,0±0,1	4,0±0,1	1,0±0,1	0,0
$К_1$ Часник (цибулина)	30,0±0,5	50,0±0,5	40.0±0,9	45,0±1,0	45,0±1,3	3,0±0,1
$К_2$ Цибуля (цибулина)	10,0±0,4	15,0±0,5	5,0±0,2	8,0±0,5	7,0±0,5	2,0±0,1
$К_3$ Дистильована вода	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
$К_4$ Бензилпеніцилін	0,0	0,0	29,0±0,9	30,0±1,0	20,0±1,0	0,0

Примітка: $К_1$, $К_2$, $К_3$, $К_4$ — контролі 1, 2, 3, 4.

Це явище було особливо помітним у дослідах із соками обох видів цикламенів. Не виключено, що цей феномен пов'язаний з наявністю у соках речовин, які виділяються під час інкубації.

У подальшому ми досліджували соки цикламенів, антимікробний вплив яких досі проявлявся двояко: у вигляді зон повної відсутності росту тест-штамів і у вигляді зон із зниженною кількістю біомаси. У таблиці 2 наведено дані про антимікробну активність соків із різних органів цих рослин на прикладі референта-штаму *S. aureus*, а також про залежність антимікробної дії від віку досліджуваних рослин.

Звертає на себе увагу достатньо висока антибактеріальна активність соків, отриманих з листа цикламена європейського. Вже на першому році вегетації рослини ця активність порівнянна з активністю соків, отриманих з бульб рослин другого року вегетації. Найбільша кількість антибактеріальних речовин, що дифундують через агар, була виявлена в бульбах другого

року вегетації цикламена перського. Феномен зменшення кількості біомаси бактерій тест-штаму найбільш переконливо виявлявся навколо лунок із соками, отриманими із листів.

Таблиця 2

Вплив соку цикламенів на ріст референта-штаму *S. aureus*

Рослина	Вік (роки)	Орган	Зона затримки росту (мм)		
			Дослід	Бензилпеніцилін	Дист. вода
Цикламен європейський	1	Бульба	1,0±0,1	29,0±0,9	0,0
		Лист	3,0±0,1		
	2	Бульба	3,0±0,1		
Цикламен перський	1	Бульба	1,0±0,1		
		Лист	2,0±0,1		
	2	Бульба	4,0±0,2		

Практично важливо визначити як впливає розбавлення соків дистильованою водою на їх антибактеріальну активність, а також термін збереження цієї субстанції при температурі побутового холодильника +4^0 С. Дані цього дослідження наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Антимікробна активність розведених соків цикламенів за їх збереження у холодильнику (зони затримки росту, мм)

Умови	Рослина	Орган	Штами		
			C. albicans	*S. aureus*	*B. subtilis*
Свіжий розведений сік	Цикламен європйський	Лист	0,0	1,0±0,1	0,0
		Бульба	4,0±0,2	3,0±0,1	1,0±0,1
	Цикламен перський	Лист	0,0	1,0±0,1	0,0
		Бульба	5,0±0,2	3,0±0,1	2,0±0,1
1 доба збереження	Цикламен європйський	Лист	0,0	1,0±0,1	0,0
		Бульба	4,0±0,2	3,0±0,1	1,0±0,1
	Цикламен перський	Лист	0,0	1,0±0,1	0,0
		Бульба	5,0±0,2	3,0±0,1	2,0±0,1
30 діб збереження	Цикламен європйський	Лист	0,0	0,0	0,0
		Бульба	3,0±0,1	1,0±0,1	1,0±0,1
	Цикламен перський	Лист	0,0	0,0	0,0
		Бульба	3,0±0,1	3,0±0,1	2,0±0,1

Всі соки розведено дистильованою водою у співвідношенні 1:1.

Дослідження показали, що розведення дистильованою водою в співвідношенні 1 : 1 практично не знижує антибактеріальну активність, так само як і збереження при +4^0 С практично не впливає на активність розведених соків з різних частин цикламенів перського і європейського. Антимікробна активність була найбільшою у соків, отриманих з бульб цикламена перського.

Був поставлений експеримент по з'ясуванню впливу нерозведених соків, отриманих з бульб обох цикламенів другого року вегетації на клінічний штам *S. aureus*. Експеримент провадили на середовищі, утримуючому кров, виходячи з того, що наявність крові у живильному середовищі може сприяти росту клінічного штаму, а також модифікувати антибактеріальну активність соку. З'ясувалося, що антибактеріальна активність щодо *S. aureus* в даному варіанті досліду була на тому ж рівні, що і до референтів-штамів. Таким чином, додавання у середовище крові не зменшувало антимікробної активності соків цикламенів. В одночас була спостережена значна гемолітична активність соків цикламенів, яка викликала помітне просвітлення агару.

Таким чином, нами встановлена наявність різного ступеня антимікробної активності соків всіх взятих в експеримент оранжерейних рослин Ботанічного саду. Соки *Cyclamen persicum* і *Cyclamen europeum* виявляли антимікробний вплив у вигляді зон повної відсутності росту тест-об'єктів, а також у вигляді значно більших за діаметром зон зменшення їх біомаси. Соки досліджуваних рослин виявляли антимікробний вплив і на патогенний штам *S. aureus*, що володіє множинною антибіотикорезистентністю. Із восьми вивчених видів рослин найбільшим спектром і потенціалом антимікробного впливу володіють *Diffenbachia seguina* і *Opuntia monocantha.* Антимікробні властивості останніх потребують подальшого більш детального дослідження.

Література

1. *O'Brien T. F.* Epidemic nature of antimicrobial resistence and the need to monitor and manage it locally // Clin. Infect. Deseases. – 1997. – V. 24, Suppl.1. – P. 2 – 10.
2. *Stelling Jon M., O'Brien Thomas F.* Surveillance of antimicrobial resistance: The WHONET program // Clin. Infect. Deseases. – 1997. – V. 24, Suppl.1. – P..157 – 168.
3. *Азарова Л. В.* О фитонцидных свойствах некоторых оранжерейных растений / Фитонциды. Роль в биогеоценозах, значение для медицины. Материалы VIII Совещания. – Киев: Наукова думка, 1981. – С. 95 – 97.
4. *Егоров Н. С.* Практикум по микробиологии. – 1976. – М. : МГУ. – С. 251 – 252.
5. *Плохинский Н. А.* Алгоритмы биометрии. – М.: МГУ, 1980. – 150 с.

Е. Л. Рахимова[1], Л. В. Азарова[2], В. Е. Рыжко[2], И. Н. Чеснокова[2]
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
[1] каф. микробиологии и вирусологии,
[2] Ботанический сад ОНУ.
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ СОКОВ НЕКОТОРЫХ ОРАНЖЕРЕЙНЫХ РАСТЕНИЙ

Резюме

Изучены антимикробные свойства восьми оранжерейных растений Ботанического сада ОНУ. Показано, что наиболее широким спектром антимикробной активности по отношению к исследованным референт-штаммам обладает *Diffenbachia seguina*. Рост грамположительных штаммов *Micrococcus luteus* и *Bacillus subtilis* наиболее сильно подавлялся соком *Diffenbachia seguina*, а *Staphylococcus aureus* – *Kalanchoe daigremontiana*. Соки *Diffenbachia seguina* и *Opuntia monocantha* максимально угнетали рост грамотрицательных штаммов *Proteus vulgaris* и *Escherichia coli* соответственно. Рост дрожжеподобных грибков *Candida albicans* наиболее сильно подавлялся соком *Diffenbachia seguina*. Обнаружено, что соки *Cyclamen persicum* и *Cyclamen europeum* вызывали как зоны полного отсутствия роста референт-штаммов, так и зоны со сниженным количеством биомассы референт-штаммов микроорганизмов.

Ключевые слова: антимикробное действие, оранжерейные растения

O. L. Rakhimova[1], L. V. Azarova[2], V.Y. Rizko[2], I. N. Chesnokova[2]
Odessa National I. I. Mechnikov University,
[1] Department of Microbiology and Virology,
[2] Botanical Garden ONU
Dvoryanskaya 2, Odessa 65026, Ukraaine

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOME HOTHOUSE PLANT JUICES

Summary

Antimicrobial characteristics of eight hothouse plants from ONU Botanical Garden were studied. It was shown that the most wide spectrum of antimicrobial activity against bacterial strains posesses the *Diffenbachia seguina* juice. Grampositive strains *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilis* were suppressed by *Diffenbachia seguina* juice to a considerable degree and *Staphylococcus aureus* by *Kalanchoe daigremontiana* juice. *Diffenbachia seguina* and *Opuntia monocantha* juices suppress the growth of gramnegative strains *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli* maximally accordingly. The growth of *Candida albicans* suppressed mostly strong by *Diffenbachia seguina* juice. It was found out that *Cyclamen persicum* and *Cyclamen europeum* juices gave both zones of full lacking of biomass and zones of reduced quantity of biomass simultaneously.

Key words: antimicrobial activity, hothouse plants

УДК 579.22.238.

М. С. Черенков[1], студ., **Н. А. Багаева**[1], студ., **Л. О. Джуртубаєва**[1], канд. біол. наук, доц., **О. С. Багаева**[2], канд. біол. наук, доц.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
[1]кафедра мікробіології та вірусології,
[2]кафедра медичних знань та безпеки життєдіяльності
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна.

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЛАРВІЦИДНИХ БАКТЕРІЙ *BACILLUS THURINGIENSIS* Л-14

Вивчено основні біологічні властивості бактерій, що мають ларвіцидну активність і виділені з личинок кровосисних комарів. З'ясовано, що ці бактерії належать до виду *B. thuringiensis*, і показано, що вони в процесі споруляції утворюють кристали кубовидної форми. Останнім вони відрізняються від інших бактерій виду *B. thuringiensis*.
Ключові слова: бацили, ендотоксин, параспоральні включення.

Актуальною проблемою сучасної мікробіології є подальше вивчення морфологічних, культуральних і фізіолого-біохімічних властивостей *B. thuringiensis*. На сьогоднішній день каталогізовано 45 серотипів цього виду бактерій, в яких, в свою чергу, було визначено 58 сероварів [1].

Унікальна властивість спороутворюючих бактерій *B. thuringiensis* утворювати кристалічний білковий інсектицидний ендотоксин (δ-ендотоксин), безпечний для теплокровних і більшості холоднокровних тварин, дає можливість використовувати їх для виробництва бактеріальних засобів боротьби з шкідливими комахами (бактокуліцид, інсектин, бітоксибацилін та ін.) [2].

На території колишнього СРСР було налагоджено виробництво бактокуліциду, продуцент якого надходив в Україну з російського Бердського заводу бактеріальних препаратів. Після розвалу СРСР Україна не закуповувала права на виробництво бактокуліциду і його виробництво припинилося.

Метою даної роботи було вивчення деяких біологічних властивостей (морфологічних, культуральних, фізіолого-біохімічних) бактерій роду *Bacillus* (штам Л-14), виділених із шлунку мертвих личинок кровосисних комарів роду Culex.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були: бактерії роду *Bacillus* – штам Л-14, виділений із шлунку мертвих личинок кровосисних комарів роду Culex, а також *B. thuringiensis* var. israelensis H_{14} ВНІІСХМ 76 (№ 7-1/23 acb

© М. С. Черенков, Н. А. Багаева, Л. О. Джуртубаєва, О. С. Багаева, 2003

№1354705) — діючий інгредієнт бактокуліциду, який був використаний для порівняння.

Для підтвердження належності досліджуваних бактерій до роду *Bacillus* здійснювали посів культур на МПА для одержання окремих колоній і опису їх морфології. Морфологію і розміри клітин, забарвлення за Грамом, рухливість, наявність спор і параспоральних кристалів вивчали з використанням мікроскопу БІОЛАМ Р-16 (×1350). Для фарбування спор і параспоральних кристалів використовували модифікований метод Пешкова [4]. Фізіолого-біохімічні властивості досліджуваних бактерій вивчали за загальновідомою методикою [3-6]. Ідентифікацію мікроорганізмів провадили за допомогою визначника Бергі [7].

Результати дослідження та їх аналіз

Досліджувані бактерії – прямі паличковидні клітини, рухливі, грампозитивні. Бактерії *B. thuringiensis* Л-14 - це палички з заокругленими кінцями розміром 0,8-1,0 × 3-4 мкм. В препаратах ці бактерії розташовувались як безладно, так і з утворенням характерних ланцюгів (рис. 1). У складі клітин виявлялися субтермінальні спори, які не впливали на розмір клітин. Спори мали еліптичну форму, розміри 0,8 – 1,2 мкм, під час споруляції утворювалися кристалічні включення кубовидної форми — δ-ендотоксин розмірами 0,4 – 1,6 мкм (рис. 2).

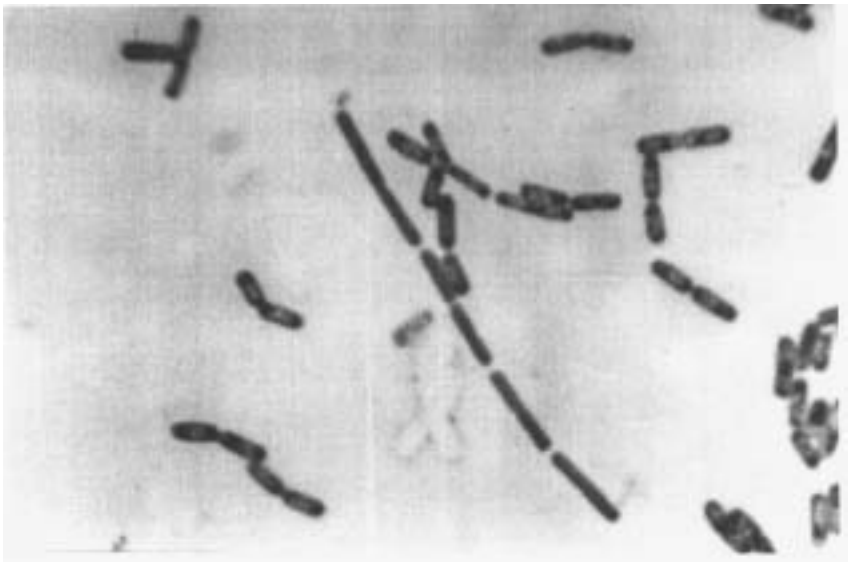


Рис. 1. Морфологія бактерій *B. thuringiensis* Л-14

Бактерії *B. thuringiensis* var. israelensis H_{14} ВНІІСХМ 76 — це палички з заокругленими кінцями розміром 0,8-1,0 × 3-4 мкм. В препаратах вони розташовувалися безладно (рис. 3).

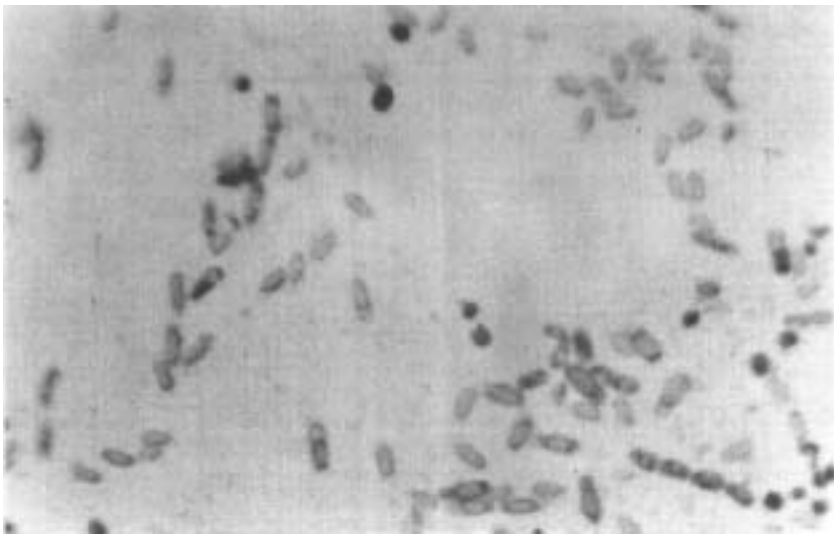


Рис. 2. Кубовидні параспоральні включення в клітинах *B. thuringiensis* Л-14

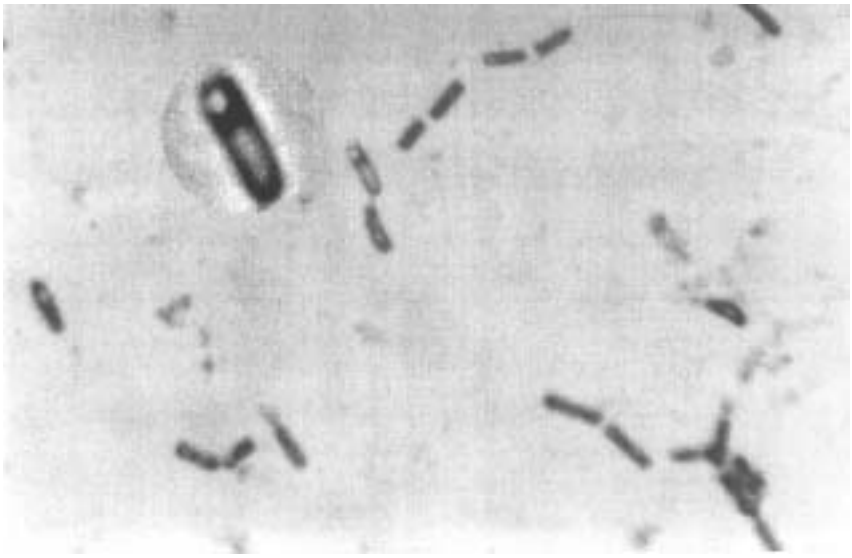


Рис. 3. Формування спори та параспорального включення у бактерії *B. thuringiensis* var. israelensis H_{14} ВНІІСХМ 76

Субтермінальні спори мали характерну еліптичну форму і розмір 0,8 – 1,1 мкм, форма кристалічних включень відрізнялась від включень штаму Л-14 тим, шо кристали мали ромбовидну форму і розмір від 0,4 до 2 мкм (рис. 4). При фарбуванні препаратів модифікованим методом Пешкова клітини мали темно-червоне забарвлення, спори – зелене, а кристалічні включення – синє.

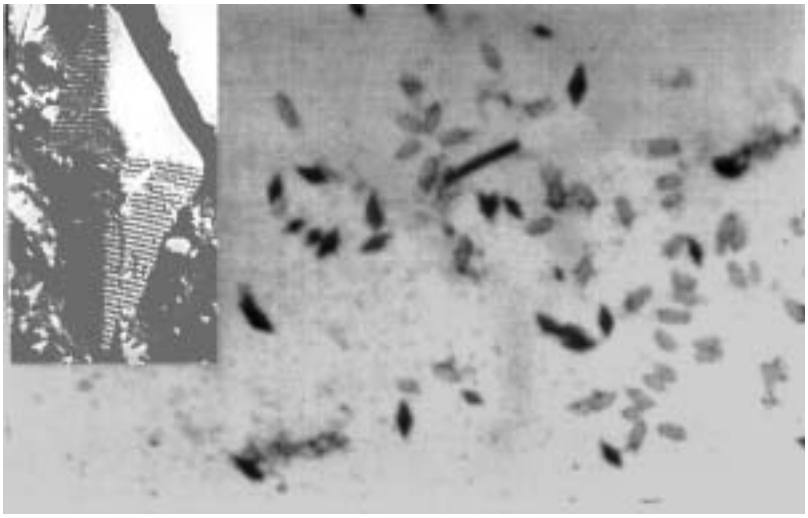


Рис. 4. Ромбовидні параспоральні включення в клітинах *B. thuringiensis* var. israelensis H_{14} ВНІІСХМ 76

Досліджувані бактерії мали культуральні властивості, характерні для представників роду *Bacillus*. Так, на МПА через 48 годин штам Л-14 утворював колонії матові, молочно-білі, з рівною поверхнею, округлі, з нерівними краями, d = 2 – 5 мм. Штам ВНІІСХМ 76 утворював колонії матові, молочно-білі, округлі або неправильної форми з нерівними краями d = 3 – 8 мм.

При культивуванні бактерій у МПБ спостерігали дифузний ріст, плівку і помутніння середовища з наступним утворенням осаду.

Досліджувані бактерії – аероби або факультативні анаероби, що узгоджується з наявністю каталази. Температурний оптимум росту — 28°С.

Наші спостереження показали, що бактерії мали високу ферментативну активність і виявляли здатність до гідролізу желатину, крохмалю, казеїну, а також до використання пропіонату і цитрату натрію. Однак, до різноманітних вуглеводів вони виявили інертність, винятком була лише глюкоза. Досліджувані бактерії мали здатність до денітрифікації і утворення ацетоїну, а також до росту в МПБ з вмістом 7% NaCl (табл. 1).

Вивчення наведених вище біологічних властивостей дозволило віднести виділені бактерії (штам Л-14) до виду *B. thuringiensis*.

Виділені з шлунку личинок кровосисних комарів роду Culex бактерії *B. thuringiensis* Л-14 можуть бути використані за створення біопрепарату, ефективного для боротьби з шкідливими комахами.

Таблиця 1

Морфологічні та фізіолого-біохімічні властивості досліджуваних бактерій

Досліджувана ознака	Штам	
	Л-14	*ВНІІСХМ 76*
Розмір клітин	3-4×0.8-1.0	3-4×0.8-1.0
Розмір спор	0.8-1.2	0.8-1.1
Розмір кристалів токсину	0.4-1.6	0.4-2
Забарвлення за Грамом	«+»	«+»
Рухливість	+	+
Форма включень: ромбовидна	-	+
кубовидна	+	+*
Гідроліз: крохмалю	+	+
казеїну	+	+
желатину	+	+
Утворення каталази	+	+
Ріст при: 5˚С	-	-
28˚С	+	+
Ріст в МПБ з вмістом 7 % NaCl	+	+
8 % NaCl	-	-
Денітрифікація	+	+
Утворення кислоти з: глюкози	+	+
арабінози	-	-
сорбіту	-	+
маніту	-	-
сахарози	-	-
манози	-	-
лактози	-	-
інозиту	-	-
Використання: пропіонату Na	+	+
цитрату Na	+	+
Реакція Фогес-Проскауера	+	+

Примітка: * — кристали зустрічаються рідко
«+» — наявність ознаки
«-» — відсутність ознаки

Література

1. *Патика В. П., Кузнецова Л. М. Bacillus thuringiensis* як основа мікробіологічного методу захисту рослин від шкідливих комах // Микробиол. журн.— 1996.— Т. 58, № 1.— С. 82 – 88.
2. *Игнатьев В. И., Карпов Э. Г., Меликсетян В. Ш.* Изучение влияния препаратов *Bacillus thuringiensis* серотипа Н-14 на теплокровных животных // Микробиол. журн.— 1988.— Т. 50, № 6.— С. 73 – 77.
3. *Резник С. Р., Слабоспицкая А. Т., Смирнов В. В.* Некоторые биологические свойства бактерий рода *Bacillus*, выделенных из организма людей // Микробиол. журн.— 1985.— Т. 47, № 3. — С. 53 – 69.
4. *Смирнов В. В., Резник С. Р., Сорокулова И. Б.* Методические рекомендации по выделению и идентификации бактерий рода *Bacillus* из организма человека и животных.—Киев, 1983. — 51 с.
5. *Смирнов В. В.. Резник С. Р., Василевская И. А.* Споровые аэробные бактерии — продуценты биологически активных веществ.—Киев : Наук. думка, 1983. — 148 с.
6. *Харвуд К.* Бациллы. Генетика и биотехнология: — М.: Мир, 1992. — 531 с.
7. *Bergey's* Manual of systematic bacteriology. – Baltimore-London: Williams and Wilkins Co., 1984. – 964 p.

М. С. Черенков[1], Н. А. Багаева[1], Л. А. Джуртубаева[1], О. С. Багаева[2]
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
[1]кафедра микробиологии и вирусологии,
[2]кафедра медицинских знаний и безопасности жизнедеятельности,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛАРВИЦИДНЫХ БАКТЕРИЙ *BACILLUS THURINGIENSIS* Л-14

Резюме

Изучены основные биологические свойства бактерий, выделеных из личинок кровососущих комаров и обладающих ларвицидной активностью. Выделенные бактерии в процессе споруляции образуют кристаллы кубической формы, что отличает их от других бактерий вида *B. thuringiensis.*

Ключевые слова: бациллы, эндотоксин, параспоральные включения.

M. S. Cherenkov, N. A. Bagaeva, L. A. Dzhurtubayeva, O. S. Bagaeva
Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Microbiology and Virology,
Dvoranskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

BIOLOGICAL PROPERTIES OF THE LARVICIDIC BACTERIA *BACILLUS THURINGIENSIS*

Summary

Main biological properties of bacteria, extracted from the bloodsucking mosquitoes larvae possessesing larvicidic activity were studied. The identification of the species *B. thuringiensis* was held. It was shown that extracted bacteria unlike other variants of the *B. thuringiensis* species form cubic crystals in the process of sporulation.

Key words: Bacillus, endotoxin, parasporales includions

УДК 579.864.1:616.331

Г. В. Ямборко, канд. техн. наук, доц.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра мікробіології і вірусології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ВПЛИВ БАКТЕРІЙ РОДУ LACTOBACILLUS НА МІКРОБІОТУ КИШЕЧНИКУ ЩУРІВ

На моделі щурів доведено, що отриманий сухий бактеріальний концентрат Lactobacillus acidophilus OL4 здатний досить швидко корегувати порушення нормобіоти кишечнику, викликані антибіотикотерапією, знижуючи кількісний вміст умовно-патогенних представників кишкової мікробіоти й одночасно збільшуючи чисельність лактобактерій. При цьому не було виявлено несприятливої дії препарату на організм експериментальних тварин. Отримані результати свідчать про можливість застосування сухої концентрованої закваски штаму L. acidophilus OL4 як лікувально-профілактичного засобу для корекції дисбіотичних порушень шлунково-кишкового тракту.

Ключові слова: лактобацили, сухий бактеріальний концентрат, антибіотикотерапія

В умовах зростання техногенних навантажень на природні біоценози і використання широкого спектру лікувальних засобів на основі антибіотиків в останні роки значно загострилася проблема профілактики та лікування захворювань, пов'язаних з порушенням природного мікробного складу кишково-шлункового тракту людей. Саме ці порушення обумовлюють різке зростання аліментарних захворювань серед населення урбанізованих територій України.

Медична практика намагається віддавати перевагу таким методам лікування, застосування яких забезпечує швидке одужання, а прояв небажаних побічних ефектів зводиться до мінімуму. Найбільш ефективними в лікуванні шлунково-кишкових інфекцій у наш час є антибіотики. Останні, однак, виявляють не тільки антибактеріальну дію. Як відомо, їх негативний вплив на макроорганізм досить різнобічний [1, 2, 5]. Крім загальних алергійних і анафілактичних реакцій, вони можуть викликати зміни в шлунково-кишковому тракті, зокрема дисбактеріоз кишечнику, що вимагає додаткового лікування. Відомо, що в профілактичній і реабілітаційній терапії дисбактеріозу найкраще зарекомендували себе препарати і харчові добавки з живих мікробних культур бактерій роду Lactobacillus [2, 6 - 9]. Проте схильність останніх до зміни серологічних і культуральних властивостей, недостатня адаптованість до біоценозів кишкового тракту людини і низький рівень стійкості до антибіотиків утруднює використання цих мікроорганізмів як лікувально-профілактичного засобу [3, 4]. Саме з цих причин

© Г. В. Ямборко, 2003

одержання сухих препаратів на базі адаптованих до біоценозів шлунково-кишкового тракту антибіотикостійких лактобактерій є актуальною проблемою з медико-біологічних та біотехнологічних позицій [9].

Виходячи з вищенаведеного, метою цієї роботи було дослідження здатності отриманого сухого бактеріального концентрату L. acidophilus OL4 корегувати мікробіоту кишечнику експериментальних тварин, порушену внаслідок антибіотикотерапії.

Матеріали і методи дослідження

У результаті скринінгу 40 штамів бактерій роду Lactobacillus, ізольованих із сирого молока, некомерційних кисломолочних продуктів і квашених овочів, виготовлених в Одеській області, отримано штам L. acidophilus OL4, перспективний для виробництва сухого концентрату. Він має більш виражену антагоністичну активність, ніж уже відомі промислові штами, середній ступінь адгезивної активності і виявляє полірезистентність до антибіотичних препаратів, що використовуються у медичній практиці. До того ж штам зберігає життєздатність у модельних умовах шлунково-кишкового тракту.

Медико-біологічні дослідження отриманого сухого бактеріального концентрату на основі штаму L. acidophilus OL4 провадилися Центральною санітарно-епідеміологічною станцією на водному транспорті України разом з кафедрою мікробіології і вірусології ОНУ. Дослідження активності цього концентрату in vivo здійснювали на чотирьох групах безпородних білих щурів масою 180-200 г (по 6 тварин у групі). Контрольна група (№ 1) перорально одержувала стерильний фізіологічний розчин (pH 7,0) в об'ємі 1 мл 1 раз на день. Тваринам групи № 2 щодня однократно вводили per os 1 мл фізіологічного розчину і антибіотик ампіцилін у терапевтичній дозі 180 мг/кг. Тварини групи № 3 одержували одну дозу сухого бактеріального концентрату штаму Lactobacillus acidophilus OL4 у вигляді суспензії в 1 мл фізіологічного розчину. В одній дозі препарату вміст живих мікробних клітин складав 10^9 колонієутворюючих одиниць (КУО). Тваринам групи № 4 аналогічним чином вводили суху ліофілізовану закваску «Наріне», яка містила 10^9 живих клітин Lactobacillus acidophilus 317/402 в одній дозі. Після 10 діб споживання антибіотика щурі групи № 2 протягом 10 діб щодня перорально отримували одну дозу сухого бактеріального концентрату штаму L. acidophilus OL4. До початку експерименту і на 10, 20 і 30 доби відбирали проби фекалій. Готували ряд серійних розведень досліджуваного матеріалу у фізіологічному розчині і по 0,1 мл кожного висівали на середовище Ендо для виділення ентеробактерій, на середовище МРС – лактобактерій, на молочно-жовточно-сольовий агар – стафілококів, на 5 % кров'яний агар – гемолізуючих мікроорганізмів, на середовище Сабуро - дріжджеподібних грибів роду Candida, у конденсаційну воду по Шукевичу – протея.

Результати дослідження

Потенційне застосування сухих бактеріальних препаратів молочнокислих бактерій як засобів, призначених для корекції складу кишкової мікробіоти, вимагає доказу їх антагоністичної активності in vivo [3, 5]. За об'єкт досліджень використовували білих безпородних щурів, що мають досить близький людському родовий склад кишкової мікробної популяції.

Результати вивчення впливу сухого бактеріального концентрату ацидофільної палички на мікробіоту кишечнику експериментальних тварин наведені на рис. 1.

Як показав аналіз кишкової мікробіоти щурів, що одержували антибіотик ампіцилін, через 10 діб після початку експерименту чисельність бактерій роду Lactobacillus різко зменшується – на 4 порядки в порівнянні з контрольною групою. У тест-групі № 2 по закінченні введення антибіотика спостерігали зростання умовно-патогенної мікробіоти. У 80 % тварин спостережено діарею. Через 10 діб після початку курсу реабілітаційної терапії у фекаліях тварин істотно зменшився вміст гемолітичних стафілококів, стрептококів, а також кількість лактозонегативних і слабкоферментативних ешерихій. В протилежність цьому вміст лактобацил зріс, хоч і був у 1,5 рази меншим у порівнянні з рівнем цих мікроорганізмів у контрольній групі. Через 20 діб після початку прийому досліджуваного сухого бактеріального концентрату вміст лактобацил у фекаліях тварин групи № 2 приблизно відповідав такому до початку експерименту.

У тварин третьої та четвертої тест-груп протягом усього періоду прийому бактеріальних концентратів вміст лактобактерій постійно зростав з одночасним зниженням кількості умовно-патогенних мікроорганізмів. Однак, чисельність дріжджеподобних грибів роду Candida для тварин даних тест-груп зменшувалась незначно у порівнянні з контролем. Через 20 днів після закінчення прийому препаратів спостерігали падіння вмісту лактобацил у фекаліях тварин четвертої групи, а у фекаліях тварин третьої групи воно було значно вищим, ніж до початку експерименту.

Після 10-добового прийому лактобактерій стан тварин третьої та четвертої груп залишився нормальним: щурі добре поїдали корм, поводження було активним, рухливість не змінилася. Шерстяний покрив тварин був сухим, блискучим, видимі слизові – блідо-рожеві. У ході експерименту не було виявлено статистично значимих змін маси тіла щурів третьої групи у порівнянні з контролем. Морфологічні дослідження, проведені по закінченні експерименту, не виявили достовірних відмінностей від контролю для таких показників, як відносна маса печінки, нирок, селезінки і надниркової залози. Гістоструктура внутрішніх органів тварин третьої та четвертої досліджуваних груп залишилася в межах норми: у тканинах печінки, нирок, селезінки, тонкого і товстого кишечнику піддослідних тварин патологічних змін після застосування сухого бактеріального концентрату L. acidophilus OL4 не спостерігали. Все це свідчить про здатність препарату інгібувати ріст умовно-патогенних представників кишкової мікробіоти без

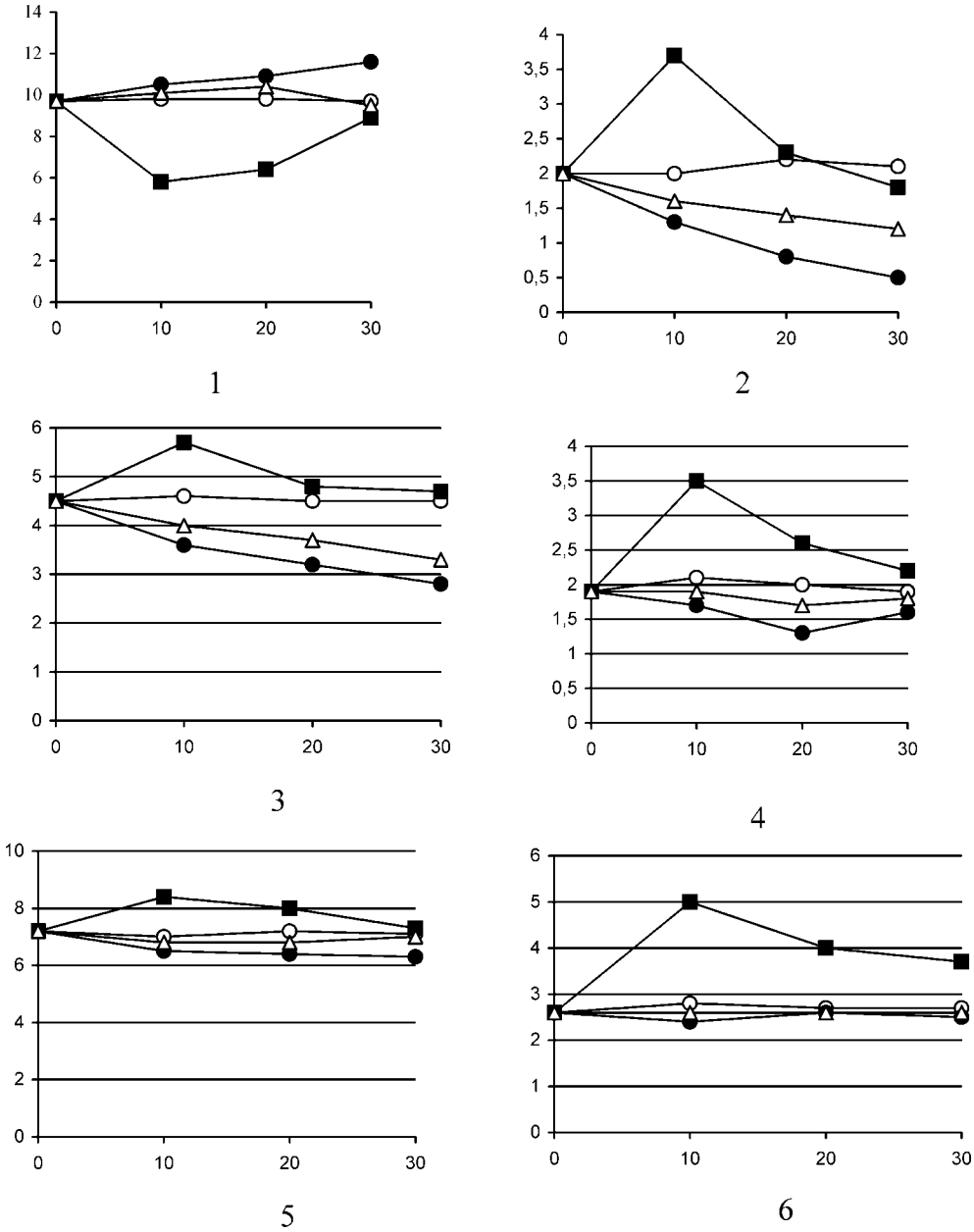


Рис. 1. Вміст мікроорганізмів: 1 – Lactobacillus; 2 – Staphylococcus; 3 – Streptococcus; 4 – Proteus; 5 – Escherichia coli; 6 – Candida в 1 г ваги вологих фекалій щурів. По вертикалі – вміст мікроорганізмів (lg N/г); по горизонталі – строки досліджень (доби) – група 1 (К); – група 2; – група 3; – група 4.

будь-якої шкоди для макроорганізму. Встановлено, що при пероральному введенні ампіциліну у тварин розвивалися дисбіотичні порушення у кишечнику, а за комбінованого використання антибіотика із сухим препаратом на основі лактобацилл вдалося в значної мірі запобігти розвитку дисбактеріозів. З'ясувалося, що сухий бактеріальний концентрат L. acidophilus OL4 має здатність досить швидко коригувати порушення нормобіоти кишечнику, викликані антибіотикотерапією, знижуючи кількісний вміст умовно-патогенних представників кишкової мікробіоти без прояву негативних впливів концентрату на організм теплокровних тварин. Отримані результати свідчать про можливість самостійного застосування сухої концентрованої закваски штаму Lactobacillus acidophilus OL4 як лікувально-профілактичного препарату, що коригує кишкову мікробіоту.

Література

1. *Дисбактериозы* кишечника, причины возникновения, диагностика, применение бактерийных биологических препаратов. – М.:Высшая школа, 1999. – 44 с.
2. *Новый* фармакотерапевтический подход к лечению и профилактике нарушений биоценоза кишечника. Информация фирмы "LEK" // Український медичний часопис. — 1998. – Т. 4, № 2. — С. 30 – 32.
3. *Влияние* комплексного пробиотика споролакта на микробиоценоз кишечника теплокровных / Смирнов В. В., Резник С. Р., Вьюнитская В. А., Сорокулова И. Б., Литвин В. П. // Мікробіол. журн. — 1995. –Т. 57, № 4. — С. 42 – 49.
4. *Федоровская Е. А., Немировская Л. Н.* Взаимосвязь микробных экосистем и иммунитета человека // Мікробіол. журн. – 1999. – Т. 61, № 5. – С. 85 – 96.
5. Вплив антибіотичних препаратів та їх комбінацій з пробіотиками на мікрофлору кишечника мишей / Фурзікова Т М., Сорокулова И. Б., Сергійчук М. Г., Січкар С. В., Смірнов В. В. // Мікробіол. журн. – 2000. – Т. 62, № 3. – С. 26 – 35.
6. *Хамнаева Н. И., Перетока Е. Г.* Разработка бактериального препарата лакто- и бифидобактерий // 2 Всерос. науч.-тех. конф., Углич, 1-4 окт., 1996: Тез.докл., Ч. 2. – Углич, 1996. – С. 660.
7. *Шабетник Г. Д., Кузьмин В. М.* Новое в производстве сухих бакконцентратов и биологически активных добавок // Молочная промышленность. – 1999. — № 8.– С. 27 - 29.
8. *Ямборко Г. В.* Розробка технології отримання сухого концентрату молочнокислих бактерій: Автореф.дис. ...канд. тех. наук: 03.00.20 / Міністерство освіти і науки України, Одеська державна академія харчових технологій. – Одеса, 2002. – 17 с.
9. *Aiba Y., Suzuki N., Kabir A. M.* et al. Lactic acid mediated suppression of Helicobacter pylori by the oral administration of Lactobacillus salivarius as a probiotic in a gnotobiotic murine model // Am. J. Gastroenterol. - 1998. – V. 93, № 11. — P. 2097 – 2101.

А. В. Ямборко
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
каф. микробиологии и вирусологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРІЙ РОДА LACTOBACILLUS НА МИКРОБИОТУ КИШЕЧНИКА КРЫС

Резюме

В опытах на крысах показано, что полученный сухой бактериальный концентрат Lactobacillus acidophilus OL4 обладает способностью достаточно быстро корригировать нарушения нормобиоты кишечника, вызванные антибиотикотерапией, снижая количественное содержание условно-патогенных представителей кишечной микробиоты и одновременно увеличивая численность лактобактерий. При этом не было выявлено неблагоприятного действия сухого препарата на организм экспериментальных животных. Полученные результаты позволяют сделать заключение о возможности самостоятельного применения сухой концентрированной закваски штамма L. acidophilus OL4 в качестве лечебно-профилактического средства для коррекции дисбиотических нарушений желудочно-кишечного тракта.

Ключевые слова: лактобациллы, сухой бактериальный концентрат, антибиотикотерапия.

G. V. Yamborko
Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Microbiology and Virology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

INFLUENCE OF LACTOBACILLUS ON THE RATS' INTESTINE

Summary

It has been shown on a rat model that the dry bacterial concentrate Lactobacillus acidophilus OL4 has the capacity to correct normal biota of rats intestine caused by antibiotic therapy rather quickly, reducing the quantitative contents of the pathogenic representatives of intestinal flora and increasing simultaneously the lactobacilli contents. The adverse action of dry preparation on the organism of experimental animals has not been revealed. The received results allow us to make a conclusion that the dry concentrate L. acidophilus OL4 can be applied as a separate treatment for correction of disbacteriosis.

Key words: lactobacilli, dry bacterial concentrate, antibiotic therapy.

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН

УДК 617.741-007:577

Т. В. Коломійчук, ст. викл., **Л. І. Сьомік,** канд. біол. наук, доц., **Ф. П. Ткаченко,** канд. біол. наук, доц., **Т. В. Гладкій,** канд. біол. наук, доц.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра фізіології людини та тварин, кафедра ботаніки,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

АДАПТОГЕННА ДІЯ ВОДОРОСТЕВИХ ЕКСТРАКТІВ — ВІДНОВЛЕННЯ ДЕЯКИХ ПОКАЗНИКІВ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ

Хронічний ситуаційний стрес моделювали у дорослих щурів на протязі одного місяця шляхом постійної зміни у випадковій послідовності режимів годування, пиття, освітленості, утримання в перенаселених клітках зі зміною складу тварин. Встановлено, що у периферійній крові піддослідних тварин за умов хронічного стресу відбувається зниження вмісту гемоглобіну в еритроцитах, збільшення кількості сегментоядерних нейтрофілів та зменшення кількості лімфоцитів. Введення щурам екстракту водоростей сприяє нормалізації деяких показників периферійної крові: кількості еритроцитів, гемоглобіну та кольорового показника. Збільшення в складі крові кількості лейкоцитів свідчить про певну адаптацію щурів до умов стресу.
Ключові слова: стрес, периферійна кров, лейкограма, водорості

Відомо, що негативні емоції, перенапруження нервової системи викликають стресові ситуації і є причиною багатьох захворювань внутрішніх органів. Вивчення механізмів розвитку патологічних процесів, що виникають за стрес-реакцій організму і розробка профілактичних засобів набуває все більшої ваги [1, 2, 3].

Стрес-реакція організму проявляється, в першу чергу, порушеннями гомеостазу. Функція крові як одна із складових гомеостазу відіграє важливу роль у перебігу неспецифічних та специфічних реакцій захисту організму від несприятливих чинників і визначає його резистентність та реактивність [4]. Пошук засобів, що сприяють нормалізації морфології та функцій клітин крові, є актуальним завданням. Для його вирішення пропонуються спеціальні харчові добавки природного походження з широким спектром лікувально-профілактичної дії [5]. Одними з них можуть бути морські водорості-макрофіти.

Морські рослинні продукти дуже багаті на різні біологічно активні речовини. Вони містять велику кількість неорганічних (йод, калій, кальцій, залізо) та органічних речовин. За амінокислотного аналізу водоростей Enteromorpha intestinalis та Cladophora vagabunda виявлено велику кількість лізіну, аланіну, гліцину та валіну. У білках цих водоростей знайдено 16 амінокислот, з яких 8 – незамінні [6]. Використання в їжу деяких видів

© Т. В. Коломійчук, Л. І. Сьомік, Ф. П. Ткаченко, Т. В. Гладкій, 2003

водоростей сприяє нормалізації вуглеводневого, білкового та ліпідного обмінів, виявляє антисклеротичну, кровоспинну та гіпотензивну дію. Крім того, в клітинах водоростей синтезуються різноманітні вторинні метаболіти (сульфатовані полісахариди, ненасичені жирні кислоти, фенольні сполуки, вітаміни тощо), які є важливими біологічно активними речовинами. Водорості утворюють також значні кількості органічного йоду та брому [7, 8, 9]. З огляду на проблему адаптації організму до стресових ситуацій водоростеві броміди калію і натрію, а також бромфеноли, відомі своєю седативною дією, можуть бути використані з профілактичною метою. Відомо, наприклад, що у зелених водоростей загальний вміст брому в сухій біомасі коливається в межах від 0,0247 до 0,247% [7].

В зв'язку з цим метою наших досліджень було вивчення адаптогенних властивостей водоростевих екстрактів, оцінюваних за зміною складу периферійної крові щурів, які перебували у стані хронічного ситуаційного стресу.

Матеріали і методи

Дослідження провадили на 7- місячних щурах- самцях лінії Вістар вагою 280-320 г. У піддослідних тварин протягом одного місяця створювали модель хронічного ситуаційного стресу (ХСС) шляхом постійного порушення у випадковій послідовності режимів годування, пиття, освітленості, утримуванням у перенаселених клітках з нерегулярною зміною їх складу [10]. Тварини знаходились в умовах віварію на стандартному раціоні. Щурів було поділено на три групи: 1 – інтактні; 2 - такі, що перебували у стані стресу і отримували щодобово за допомогою внутрішньошлункового зонда по 2 мл дистильованої води; 3 –такі, що перебували у стані стресу і аналогічним чином отримували по 2 мл 5% водного екстракту водоростей. У досліді використано екстракт із суміші зелених водоростей (70% - Enteromorpha intestinalis (L.) Link. і 30% - Cladophora vagabunda (L.) Hoek). Кров відбирали з хвостової вени щурів до початку досліду, а також на 15 та 30 добу експерименту з попередньою реєстрацією маси тварин. В зразках крові визначали загальну кількість лейкоцитів та еритроцитів. Підрахунок елементів крові вели за допомогою камери Горяєва [11]. Вміст гемоглобіну визначали гемоглобінціанідним методом [12] та розраховували кольоровий показник крові (КП) за загальновідомими формулами [11]. Абсолютну кількість окремих форм лейкоцитів (нейтрофілів, лімфоцитів) підраховували у фіксованих та забарвлених мазках крові щурів під імерсійним збільшенням світлового мікроскопа. Статистичну обробку даних провадили згідно з t- критеріем Ст'юдента [13].

Результати досліджень та їх аналіз

Дослідження динаміки маси щурів контрольної (інтактної) та експериментальної груп щурів, що знаходилися в умовах стресових ситуацій показали, що на 30 добу експерименту маса тварин контрольної групи збільши-

лась на 33% по відношенню до початкової ваги. У тварин другої групи, що знаходилися в умовах ситуаційного стресу, було зафіксовано зменшення їх маси: на 10% на 15 добу та на 15% на 30 добу експерименту. У групі тварин, що отримували екстракт водоростей за умов стресу, було відзначено вірогідне збільшення їх маси на 18% на 30 добу, а не зменшення, як це мало місце у тварин другої групи (табл. 1).

Таблиця 1

Динаміка маси щурів контрольної та експериментальних груп (г)

Варіанти досліду	Показники	Строки досліджень (доби)		
		До початку досліду	15	30
Контроль	M ± m	300,0 ±9,7	340,7 ± 2,1*	400,0 ± 22,6*
n = 5	%	100	114	133
ХСС+дист. вода	M ± m	318,0 ±15,3	286,2 ±16,1	270,0 ±11,6*
n = 5	%	100	90	85
ХСС+екстракт водоростей	M ± m	280,5 ±13,3	300,7 ±12,5	331,7 ±16,1*
n = 5	%	100	107	118

* $p < 0,05$ порівняно з вихідними даними

В другій частині досліджень вивчали стан периферійної крові щурів за умов хронічного ситуаційного стресу (ХСС). Спостережено незначне зменшення (на 5%) кількості еритроцитів на 15 добу з подальшим відновленням їх кількості до рівня вихідних даних на 30 добу експерименту (табл. 2).

У тварин, що отримували екстракт водоростей у стані стресу (третя група), встановлено вірогідне збільшення (на 13 %) кількості еритроцитів на 30 добу експерименту.

Вивчення вмісту гемоглобіну в крові щурів, що знаходились у стані стресу, показало, що цей показник вірогідно зменшується на 10 % на 15 добу та на 16 % на 30 добу експерименту (табл. 3).

Важливим показником якості крові є ступінь насиченості еритроцитів гемоглобіном, тобто кольоровий показник (КП) крові (табл. 4).

Дослідження показало, що за умов впливу стресових ситуацій в крові щурів на 30 добу КП вірогідно зменшується (на 21%). У щурів, що отримували за цих умов екстракт водоростей, спостерігалось лише незначне зменшення КП (на 8 %) на 15 добу з подальшим відновленям його до вихідного рівня (30 доба).

Таблиця 2

Вміст еритроцитів у периферійній крові щурів контрольної та експериментальних груп (10^{12} клітин на літр)

Варіанти досліду	Показники	Строки досліджень (доби)		
		До початку досліду	15	30
Контроль n = 5	M ± m %	5,37 ±0,23 100	5,31 ±0, 42 99	5,33 ±0,33 99
ХСС+дист.вода n = 5	M ± m %	5,54 ±0,41 100	5,26 ±0,20 95	5,92 ±0,20 107
ХСС+ екстракт водоростей n = 5	M ± m %	5,07 ±0,28 100	5,19 ±0,18 102	5,72 ±0,14* 113

* p< 0,05 порівняно з вихідними даними

Таблиця 3

Динаміка вмісту гемоглобіну в крові щурів контрольної та експериментальних груп (г/л)

Варіанти досліду	Показники	Строки досліджень (доби)		
		До початку досліду	15	30
Контроль n = 5	M±m %	148,6 ± 4,70 100	145,1±2,56 98	147,4±3,13 99
ХСС+ дист. вода n = 5	M ± m %	147,7 ±1,76 100	133,3 ±3,49* 90	124,5 ±1,20* 84
ХСС+ екстракт водоростей n = 5	M ± m %	138,5 ±3,35 100	129,8 ±2,99 94	154,4 ±3,04* 112

* p< 0,05 порівняно з вихідними даними

Таблиця 4

Динаміка кольорового показника периферійної крові щурів контрольної та експериментальних груп (відн. од.)

Варіанти досліду	Показники	Строки досліджень (доби)		
		До початку досліду	15	30
Контроль n = 5	M±m %	0,83 ±0,03 100	0,82 ±0,04 99	0,83 ±0,05 100
ХСС+ дист. вода n = 5	M ± m %	0,80 ±0,05 100	0,76 ±0,02 95	0,63 ±0,01* 79
ХСС+ екстракт водоростей n = 5	M ± m %	0,82 ±0,06 100	0,75 ±0,03 92	0,81 ±0,03 99

* p < 0,05 порівняно з вихідними даними

Зазначене збільшення кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну та стабільність кольорового показника периферійної крові тварин, які отримували екстракт водоростей у стані стресу, зумовлені наявністю у використаних препаратах водоростей фізіологічно активних речовин, перш за все вітамінів групи В, макро- і мікроелементів - йоду, заліза, брому та ін. [7]. Це сприяло їх адаптації до умов експерименту. З літературних джерел відомо, що різні види стресу по-різному впливають на показники імунної системи [5]. В нашому досліді в крові щурів другої групи (за умов стресу) спостерігалося зменшення кількості лейкоцитів на 9 % на 30 добу експерименту (табл. 5).

Таблиця 5

Вміст лейкоцитів у периферійній крові щурів контрольної та експериментальних груп (10^9 клітин на літр)

Варіанти досліду	Показники	Строки досліджень (доби)		
		До початку досліду	15	30
Контроль n = 5	M±m %	11,0 ±1,5 100	11,3 ±1,3 102	11,1 ±1,0 101
ХСС+ дист.вода n = 5	M ± m %	14,1 ±1,9 100	15,2 ±2,4 108	12,8 ±1,1 91
ХСС+ екстракт водоростей n = 5	M ± m %	9,4 ±1,0 100	16,8 ±2,7* 179	12,0 ±1,6 128

* $p < 0,05$ порівняно з вихідними даними

У щурів, що отримували водорості за умов стресу (третя група), відмічено збільшення кількості лейкоцитів на 80% на 15 добу та на 29% на 30 добу дослідження, що свідчить про кращу адаптацію та більшу резистентність цих тварин до несприятливих умов експерименту.

Аналізуючи показники абсолютної кількості окремих форм лейкоцитів в периферійній крові щурів за умов стресу слід зазначити, що на 30 добу експерименту спостерігалося вірогідне збільшення (на 22 %) кількості сегментоядерних нейтрофилів на фоні зменшення кількості лімфоцитів на 25% (рис. 1).

Згідно даних літератури [14, 15] зміни показників периферійної крові можуть бути зумовлені перерозподілом клітин у циркулюючому пулі завдяки глюкокортикоїдам, рівень яких підвищується під впливом стресових чинників. В той же час у крові тварин, що отримували екстракт водоростей, на 15 добу експерименту спостережено лише зменшення (на 15%) кількості лімфоцитів, та несуттєве збільшення кількості сегментоядерних нейтрофілів, які на 30 добу дослідження кількісно були на рівні вихідних даних.

Таким чином, у щурів, що перебувають у стані хронічного ситуаційного стресу, виникають певні зміни складу периферійної крові. Введення в їх раціон екстракту водоростей сприяє нормалізації деяких показників периферійної крові: кількості еритроцитів, гемоглобіну та кольорового показ-

ника. Несуттєве збільшення кількості сегментоядерних нейтрофілів та зменшення кількості лімфоцитів у щурів, що отримували екстракт водоростей, свідчить про певну адаптацію щурів до умов стресу.

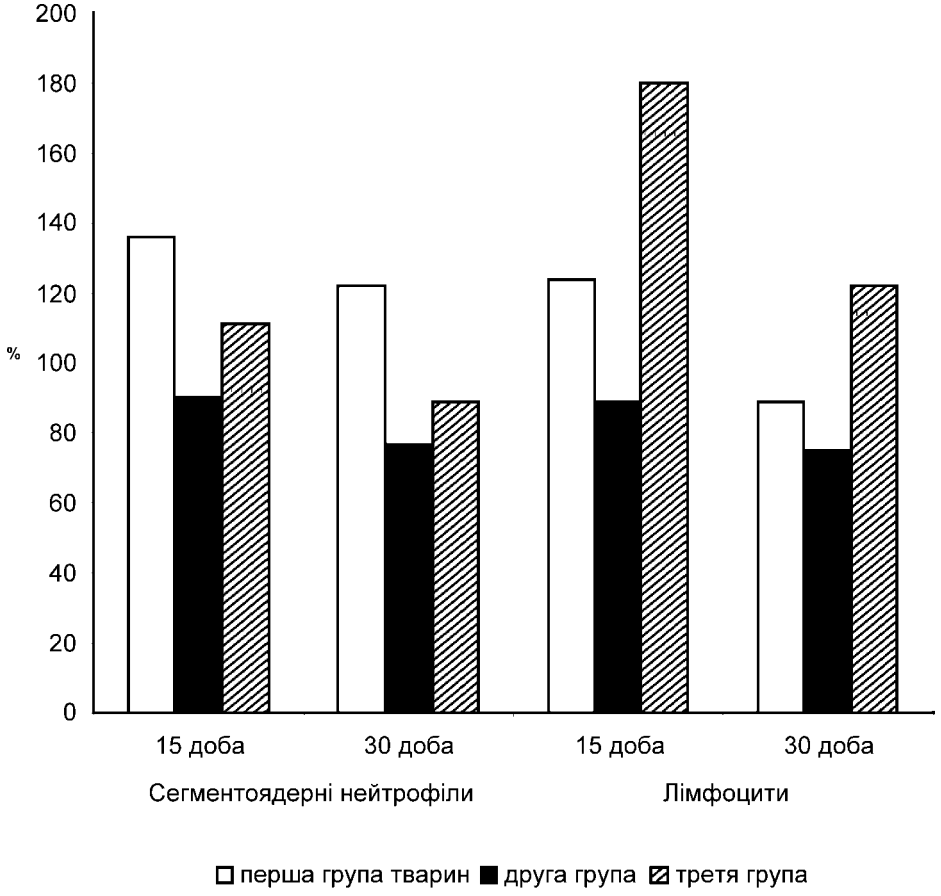


Рис. Вміст абсолютного числа нейтрофілів та лімфоцитів периферійної крові щурів (по відношенню до вихідних даних)

Література

1. *Заводская И. С., Морева Е. В.* Фармакологический анализ механизма стресса и его последствий. – Л.: Медицина, 1981. – 212 с.
2. *Berlett B. S., Stadtman E. R.* Protein Oxidation in Aging, Disease and Oxidative Stress // J. Biol. Chem. — 1997. — V. 272, № 33. — P. 20313 – 20316.
3. *Коломійчук С. Г., Коломійчук Т. В.* Вплив хронічного ситуаційного стресу на активність ферментів антиоксидантної системи мозку щурів // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т. 34, № 4а (додаток). — С. 144 – 145.
4. *Горизонтов П. Д.* Общая характеристика и значение реакции стресса // Вестн. АМН СССР. – 1975. – № 8. – С. 81 – 83.

5. *Горизонтов П. Д., Белоусова О. И., Федотова М. И.* Стресс и система крови — М.: Медицина, 1983. — 240 с.
6. *Ткаченко Ф. П., Коваль В. Т.* Биохимический состав массовых бентосных водорослей Черного моря // Гидробиол. журн. – 1990. – Т. 26, № 5. — С. 33 – 36.
7. *Сиренко Л. А., Козицкая В. Н.* Биологически активние вещества водорослей и качество воды. — Киев: Наук. думка, 1988. — 256 с.
8. *Катвалюк А. А.* Новые технологии питания в санаторно-курортной системе // Диагностика и профилактика негативных последствий радиации. — Киев: Наук. думка, 1997. — С. 127 – 128.
9. *Казьмин В. Д.* Морские сокровища. — М.: Пищевая промышленность, 1972. — 138 с.
10. *Фролькис и др.* Модель хронического ситуационного стресса и его влияние на темп старения и продолжительность жизни крыс // Фізіолог. журн. — 1998. — Т. 44, № 5 – 6. — С. 7 – 14.
11. *Справочник.* Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В. В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 289 с.
12. *Горячковский А. М.* Справочное пособие по клинической биохимии. — Одесса: ОКФА, 1994. — 391 с.
13. *Плохинский Н. А.* Математические методы в биологии. — М.: Изд-во Моск. ун-та. — 1978. — 266 с.
14. *Butte C., Kakihana R., Farnham M. L., Noble E. P.* The relationship between brain and plasma corticosterone stress in developing rats // Endocrinology. — 1973. — V. 92, № 2. — P. 1775 – 1779.
15. *Walker C.-D., Scribner K. A., Cascio C. S., Dallman M. F.* The pituitary- adrenocortical system of neonatal rats is responsive to stress throughout development in a time- dependent and stressor- specific fashion // Endocrinology. — 1991. — V. 128, № 3. — P. 1385 – 1395.

Т. В. Коломийчук, Л. И. Сёмик, Ф. П. Ткаченко, Т. В. Гладкий
Одесский национальный университет, кафедра физиологии человека и животных
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

АДАПТОГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТОВ ВОДОРОСЛЕЙ — ВОССТАНОВЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА

Резюме

Хронический ситуационный стресс моделировали у взрослых крыс в течение одного месяца путем постоянной смены в случайной последовательности режимов питания, поения, освещенности, содержании в перенаселенных клетках со сменой состава животных. Установлено, что в периферической крови подопытных животных в условиях хронического стресса происходит снижение содержания гемоглобина в эритроцитах, увеличение количества сегментоядерных нейтрофилов и уменьшение количества лимфоцитов. Введение крысам экстракта водорослей способствует нормализации некоторых показателей периферической крови: количества эритроцитов, гемоглобина и цветного показателя. Увеличение в составе крови количества лейкоцитов свидетельствует об адаптации крыс к условиям стресса.

Ключевые слова: стресс, периферическая кровь, водоросли

T. V. Kolomiychuk, L. I. Semik, F. P. Tkachenko, T. V. Gladky
Odessa Nathional I.I. Mechnikov University,
Department of Human Physiology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

ADAPTOGENIC ACTION OF ALGAE EXTRACTS – RESTORATION OF SOME PERIPHERAL BLOOD CHARACTERISTICS OF RATS UNDER THE CONDITION OF CHRONIC STRESS

Summary

Chronic situational stress was modeled in adult rats by one month's permanent randomized changing of feed routine, drinking, illumination, keeping them in the overpopulated cages with permanent changing of animals composition. It was determined that in the peripheral blood of experimental animals under the chronic stress content of hemoglobin in erythrocytes is decreasing, number of segmentonuclear neutrophiles is increasing, number of lymphocytes is decreasing. Introduction of algae extract to rats contributes to the normalizing of peripheral blood characteristics: number of erythrocytes, hemoglobin and color index. Increasing in leukocytes number is an evidence of moderate adaptation of rats to stress conditions.

Key words: stress, peripheral blood, algae

УДК 615.015

І. Г. Чудотворова, асп., **Т. Ю. Степанова** асп.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра мікробіології і вірусології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ВПЛИВ СИНТЕТИЧНИХ ІНДУКТОРІВ ІНТЕРФЕРОНУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ МАКРОФАГІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ

На моделі токсичного гепатиту було вивчено вплив аміксину, лораміксину та циклоферону на активність макрофагів. Встановлено, що синтетичні низькомолекулярні індуктори синтезу інтерферону підвищують фагоцитарну активність макрофагів у нормі та при патології. При цьому підвищується як поглинальна здатність цих клітин, так і їх активність у НСТ-тесті, що свідчить про інтенсифікацію окисно-відновних процесів.
Ключові слова: макрофаги, індуктори інтерферону, токсичний гепатит, фагоцитоз.

У роботах останніх років встановлено, що інтерферон є важливим фізіологічним модулятором імунореактивності. Він може стимулювати, а в деяких випадках інгібувати як клітинний, так і гуморальний імунітет. В даний час велика увага надається вивченню клітинної імунної відповіді при різних патологічних процесах, за якої фагоцитам відведена ведуча роль [1]. Сукупність наявних даних дозволяє зробити висновок, що імунологічні ефекти інтерферону пов'язані, головним чином, з його дією на лімфоїдні клітини [2].

Однак, терапія інтерфероном нерідко призводить до розвитку небажаних реакцій, а результати лікування, як правило, виявляються незадовільними. Застосування препаратів, що індукують синтез ендогенного інтерферону, має ряд переваг перед рекомбінантними інтерферонами [3].

Метою роботи було вивчення впливу низькомолекулярних індукторів інтерферону на функціональну активність макрофагів в нормі та при патологічних станах.

Матеріали та методи дослідження

В експерименті використовували білих мишей-самців масою 18 – 20 г, що містилися у стандартних умовах віварію з постійним доступом до води. Остання годівля відбувалася за 24 години до експерименту.

Досліджувані сполуки (аміксин, лораміксин, циклоферон) вводили тваринам за 3 дні до експерименту одноразово перорально у еквімолярних дозах (0,1 ммоль/кг). Контрольним тваринам вводили фізіологічний розчин.

Для індукції гепатиту мишам ін'єкували CCl_4 з розрахунку 2 моль/кг у рослинній олії, підшкірно, двічі [4]. Тварин брали в експеримент наступного дня після останнього введення CCl_4.

© И. Г. Чудотворова, Т. Ю. Степанова, 2003

Макрофаги із перитонеальної порожнини виділяли за методом [5].

Інтенсивність фагоцитозу оцінювали за кількістю клітин дріжджів ($\cdot 10^6$), поглинених 10^6 макрофагами [6].

Стан окисно-відновних систем макрофагів оцінювали за кількістю відновленого ними до диформазану нітросинього тетразолію (НСТ-тест) [7].

Результати досліджень та їх обговорення

Результати враховували через 1 і 3 доби після введення препаратів здоровим мишам. При цьому отримали наступні результати (рис.1). Інтенсивність фагоцитозу за введення аміксину і лораміксину зростає через добу на 28% і 22% відповідно, а за введення циклоферону — на 60%. Через три доби ці показники для перших двох препаратів складають 54% і 44% відповідно. Інтенсивність фагоцитозу у тварин, яким вводили циклоферон, на третю добу після ін'єкції виявилася на 11% нижчою, ніж у контролі.

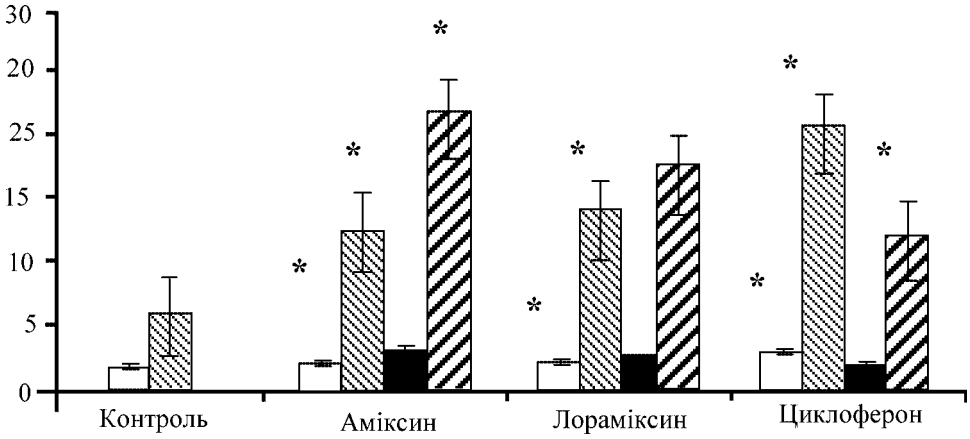


Рис. 1. Вплив індукторів інтерферону на функціональну активність макрофагів мишей в різні строки після введення

Примітка: по вертикалі – кількість клітин дріжджів($\cdot 10^6$), поглинених 10^6 макрофагами та мкг диформазану, відновленого 10^6 макрофагами.

По горизонталі — □ — фагоцитоз через одну добу; ▧ — фагоцитоз через три доби; ■ — НСТ-тест через одну добу; ▨ — НСТ-тест через три доби; *— достовірно у порівнянні з контролем

У НСТ-тесті спостерігається підвищення активності в 2, 2,5 і 4,5 рази через добу після введення аміксину, лораміксину та циклоферону відповідно. Через три доби інтенсивність окисно-відновних процесів у тварин, яким вводили аміксин, зросла в 3,6 рази у порівнянні з контролем. У тварин, яким вводили лораміксин, відбулося дворазове підвищення активності макрофагів у НСТ-тесті. На третю добу після введення циклоферону активність макрофагів знизилася вдвічі (рис. 1). Це може бути обумовлене тим, що циклоферон належить до ранніх індукторів інтерферону [8]. У цьо-

му випадку рівень цитокіну є максимальним через 18 годин після введення препарату і падає вже на кінець першої доби після ін'єкції. Аміксин і лораміксин індукують більш пізню продукцію інтерферону – через 36 – 40 годин після введення їх тваринам.

За ін'єкцій зазначених препаратів мишам з токсичним гепатитом також спостерігали підвищення інтенсивності фагоцитозу (рис. 2).

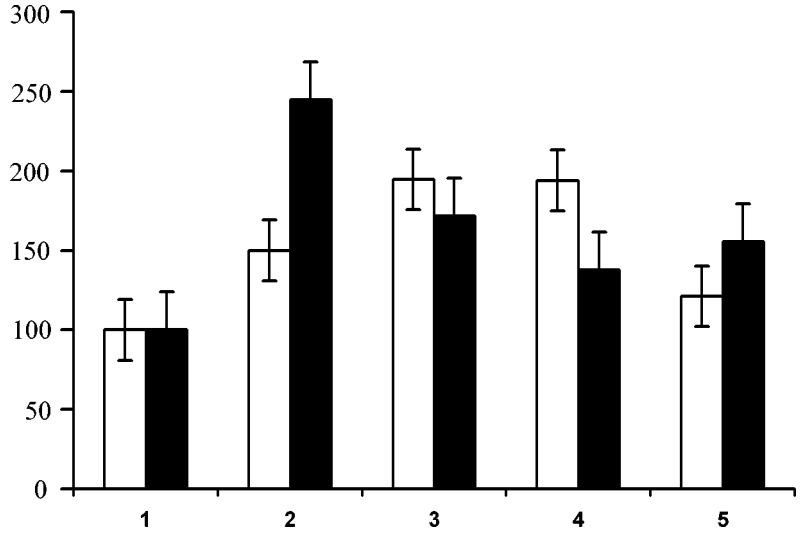


Рис. 2. Вплив індукторів інтерферону на функціональну активність макрофагів мишей з токсичним гепатитом

Примітка: по вертикалі – інтенсивність фагоцитозу та активність у НСТ-тесті, %. По горизонталі - 1-інтактні тварини; 2-введення гепатотоксину; 3, 4, 5 – введення аміксину, лораміксину, циклоферону відповідно на фоні гепатотоксину)

□ — фагоцитоз; ■ — НСТ-тест

Це підвищення було незначним за введення циклоферону. У мишей, яким вводили гепатотоксин, було очевидним збільшення фагоцитарної активності у порівнянні зі здоровими тваринами. Це можна пояснити тим, що CCl_4 вводиться в масляному розчині, а жирні кислоти, як відомо, можуть підвищувати функціональну активність макрофагів [9].

Активність макрофагів у НСТ-тесті у мишей з індукованим токсичним гепатитом за введення всіх використаних препаратів дещо зменшувалась у порівнянні з нелікованими тваринами. Можливо, це пов'язано зі здатністю цих сполук інгібувати процеси перекисного окиснення ліпідів [10], за рахунок яких зростає активність макрофагів у НСТ-тесті під впливом CCl_4 [11].

Отримані дані свідчать про те, що синтетичні індуктори інтерферону сприяють функціональній активації макрофагів. При цьому підвищується як поглинальна здатність цих клітин, так і їхня активність у НСТ-тесті, що свідчить про інтенсифікацію окисно-відновних процесів. Ефекти цих спо-

лук визначаються динамікою продукування в організмі цитокіну. Так, циклоферон – швидкий індуктор інтерферону [8] – викликає максимальний ефект вже через 24 год. після введення. У той же час аміксин і лораміксин, що забезпечують більш пізню появу інтерферону і його пролонговану циркуляцію [3] в організмі, викликають поступове зростання активності макрофагів, максимум якої досягається через три доби. Таким чином, пізні індуктори забезпечують більш тривалий стимулюючий ефект.

За токсичного гепатиту, який викликано тетрахлорметаном, спостерігається підвищення фагоцитарної активності і здатності макрофагів відновлювати НСТ. Інтенсифікація функцій макрофагів за цих умов, очевидно, обумовлена комплексом причин: запальним процесом у печінці, деструкцією гепатоцитів, а також олією, у якій вводився гепатотоксин. Крім того, істотне збільшення активності клітин у НСТ-тесті частково відбувається за рахунок посилення перекисного окиснення ліпідів.

Таким чином, отримані результати приводять до висновку, що серед механізмів дії синтетичних низькомолекулярних індукторів інтерферону істотне місце займає функціональна активація макрофагів.

Література

1. *Учитель И. Я.* Макрофаги в иммунитете. – М.: Медицина, 1978. — 198 с.
2. *Ершов Ф. И.* Система интерферона в норме и при патологии. – М.: Медицина, 1996. – 238 с.
3. *Малашенкова И. К., Тазулахова Э. Б., Дидковский Н. А.* Интерфероны и их индукторы // Терапевтический архив. – 1998. – №.11. – С. 35 – 39.
4. *Гацура В. В., Саратиков А. С.*, Фармакологические агенты в экспериментальной медицине и биологии. – Томск: Медицина, 1977. — 143 с.
5. *Новые* методы культуры живых тканей/ Под редакцией Ю. М. Оленова. – М.: Мир, 1976. – 148 с.
6. *Kaminski N. E., Roberts I. F., Guthrie F. E.* A rapid spectrophotometric method for assessing macrophage phagocytic activity//Immunology Lett. — 1985. — V. 10, № 6. — P. 329 – 331.
7. Raichvarg D., Marchand E., Sarfati G., Agneray J. Technique colorimetrique d'evaluation de l'activite phagocytere des macrophages peritoneaux de souris//Ann. immunol, — 1980. — D. 131, № 1. — P. 71 – 78.
8. *Ершов Ф. И., Новохатский А. С.* Интерферон и его индукторы. – М.: Медицина, 1980. – 174 с.
9. *Учитель И. Я. Харитонова А. М.* Общие закономерности реакции макрофагов при введении различных антигенов и фагоцитозе микроорганизмов // Журнал микробиологии. – 1979. – № 2. – С. 29 – 32.
10. *Губский Ю. И.* Коррекция химического поражения печени. – К.: Наукова думка, 1989. — 127 с.
11. *Фрейдлин И. С., Артеменко Н. К.* Изменения функциональной активности макрофагов, их морфологии и метаболизма под влиянием некоторых биологичекси активных веществ // Цитология. — 1985. — № 2. — С. 181 – 187.

И. Г. Чудотворова, Т. Ю. Степанова
Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова,
кафедра микробиологии и вирусологии
ул. Дворянская 2, Одесса, 65026, Украина

ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ИНДУКТОРОВ ИНТЕРФЕРОНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ ПРИ ЭКПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

Резюме

На модели токсического гепатита было изучено влияние амиксина, лорамиксина и циклоферона на активность макрофагов. Установлено, что синтетические низкомолекулярные индукторы интерферона повышают фагоцитарную активность макрофагов в норме и при патологии. При этом повышается как поглотительная способность этих клеток, так и их активность в НСТ-тесте, что свидетельствует об интенсификации окислительно-восстановительных процессов.

Ключевые слова: макрофаги, индукторы интерферона, токсический гепатит, фагоцитоз.

I. G. Chudotvorova, T. Y. Stepanova
Odessa Nathional I.I. Mechnikov University,
Department of Microbiology and Virology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

THE INFLUENCE OF SYNTHETIC INDUCERS OF INTERFERON ON THE MACROPHAGE FUNCTIONAL ACTIVITY AT EXPERIMENTAL TOXIC HEPATITIS

Summary

The influence of amixin, loramixin and cyclopheron on macrophage activity has been studied on the model of toxic hepatitis. It has been shown that low molecular weight interferon inducers increase the activity of phagocytes in normal and pathological state. At the same time the phagocytic activity and the activity in TNB-test increase. This fact testifies that the processes of reduction-oxidation are intensified.

Key words: macrophages, interferon inducers, toxic hepatitis, phagocytosis.

ОГЛЯДОВІ СТАТТІ

УДК 636.2.

Н. А. Шалимов, д-р с.-х. наук, проф.
Одесская государственная академия холода,
кафедра инженерной теплофизики,
ул. Дворянская, 1/3, Одесса, 65026, Украина

ОСНОВНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ОБЩЕЙ ТЕОРИИ КОНСТИТУЦИИ ЖИВЫХ СИСТЕМ

Рассматриваются основы построения общей теории конституции для живых систем на всех уровнях биологической организации. Обсуждаются принципы классификации конституций, роль естественного и искусственного отбора в их формировании, эволюционная последовательность возникновения детерминирующих стадий, являющихся предшественниками феномена конституции.
Ключевые слова: конституция, онтогенез, детерминация, генотип, эволюция

Изучение наследственной обусловленности конституциональных различий животных представляет собой одну из наиболее важных и сложных задач биологии. Конституция — широко применимое понятие, имеющее значение биологической реальности. Проникнув в самые различные области биологии, проблема конституции утратила четкие границы. До настоящего времени она разрабатывалась совершенно изолированно в различных областях биологии и медицины. Между тем общие закономерности конституциональных основ в живой природе существуют.

Построение общей теории конституции требует установления определенных закономерностей развития и его генетической детерминации на всех уровнях биологической организации животного (организм — ткань — клетка — субклеточные элементы). Это очевидно, поскольку один уровень организации отличается от другого как геометрическими, так и структурными параметрами. При этом и методы исследования будут разными: от морфометрии тела особи до его рентгеноструктурного анализа. Если такие общие закономерности будут установлены, то пути становления и развития живой системы с соответствующим типом обмена веществ, с совершенно определенным типом онтогенеза получат новое освещение, а возможности прогнозирования путей эволюции типов популяций в различных природно-климатических условиях значительно возрастут. Более обоснованной станет выработка стратегии взаимоотношения в системе “генотип-среда “. Это позволит постепенно формировать популяции, обладающие такой направленностью обмена веществ, которая позволит раскрыть закономерности физиолого-биологической детерминации продуктивных качеств животных, способствующих наиболее полной реализации потенциала наследственно обусловленного конституционального типа организма. К сожалению, пока не только не создана общая теория конституции, но даже нет общепринято-

© Н. А. Шалимов, 2003

го определения этого явления, хотя бы в чисто биологическом или зоотехническом понимании. В биологии созданы все предпосылки для возрождения интереса к конституции уже на основе современных генетических и физиологических представлений [1].

В данной статье высказаны некоторые соображения по этой проблеме, и в частности по определению понятия конституции, принципов классификации, дифференциации процесса онтогенеза, роли естественного и искусственного отбора в формировании конституции и ее эволюционной последовательности в процессе развития.

Определение понятия. Любое определение должно кратко характеризовать сущность понятия, однако, как в ряде специальных исследований, так и во многих популярных изданиях [2], определение конституции не удовлетворяют указанному выше требованию и, по сути дела, определениями не являются, так как построены на пояснении одного термина (конституция) посредством другого (устройство). Однако есть группа определений с более или менее удачными попытками раскрыть сущность явления, но они ориентированы только на определенный организменный уровень. Например: "Конституцию животного нужно рассматривать как тип или особенность его индивидуального развития, а не совокупность признаков" [3].

В настоящее время во всех странах с развитым агропромышленным комплексом широкое применение получила крупномасштабная селекция, опирающаяся на достижения популяционной генетики, поэтому вышеприведенные определения нельзя считать удовлетворительными. Поэтому ряд ученых феномен конституции рассматривают в популяционно-генетическом аспекте [1]. Появление нового генотипа обусловлено действием отбора, который реализуется благодаря огромному запасу накопленной ранее изменчивости видов и популяций, а также в результате пополнения этого запаса за счет спонтанного мутагенеза. Само же определение конституции дано в организменном плане как "...совокупность морфологических и функциональных особенностей организма, определяющих норму его реакции на воздействия внешней среды".

Важный этап в разработке общего определения конституции - применение системного подхода к этой проблеме [4], согласно которому конституция есть "...тесная связь и взаимное соотношение всех основных свойств организма: морфологических и функциональных, физиологических и биохимических, биологических и психических в нормальных условиях существования". Конституцию определяют и как "... совокупность организма, которая развивается с присущей ей закономерностью в определенных условиях существования" [5].

Видимо следует исходить из такого фундаментального свойства живых систем, как функциональная резистентность: конституция (устройство) - комплексная функциональная резистентность живой системы в реализации своего генетического потенциала в процессе онтогенеза. В нашем понимании функциональная резистентность системы - это поддержание ее

составных в пределах, характерных для оптимальных состояний и обеспечивающих данной системе оптимальное функционирование.

Данное системное определение конституции применимо ко всем уровням биологической организации, где изучается явление. В этом заключено принципиальное отличие от предложенных ранее определений, и надо полагать, такое определение наиболее соответствует исходному пункту в построении общей теории конституции. Открытым остается вопрос: какое из качеств (целостность, соответствие или резистентностъ системы) следует считать более значительным?

Некоторые современные ученые [6, 7] предлагают методы изучения биотипов, связанные в первую очередь все же с методологическими основами и дающие возможность научно обосновать и разделить организмы с разными качествами. Не давая подробного анализа и общей оценки этих работ в области создания особей желательного типа, необходимо отметить, что авторы критически проанализировали большой материал по изучению методов определения типов, их классификации, уточнения понятия "внутрипородный тип". Но обоснования важнейших принципов создания теории конституции в этих изысканиях не обнаружено, что объяснимо, скорее всего, разным пониманием самой задачи подобных исследований.

Классификации. Принципов классификации такого многообразного и разнопланового понятия, как конституция, предложено немало. Разные подходы к ее изучению породили большое количество классификаций, в основу которых были положены различные принципы [8]. В практике отечественной биологической науки широко применяема классификация с делением особей на три основных типа: грубый, крепкий и нежный. Первый и третий подразделяются на плотный и рыхлый [1]. Большой интерес ученых к изучению внутрипородных типов лишний раз подтверждает актуальность данной проблемы, хотя она еще недостаточно разработана.

Познавательное значение разных классификаций неодинаково. Многие из них более или менее удачно дополняют друг друга. При дальнейшем развитии учения о конституции за основу должны быть взяты две системы классификации [1]: морфологическая (относительное развитие отдельных тканей организма) и функциональная (по уровню организации типов нервной деятельности). Для обоснования наиболее обобщенной классификации конституции, на наш взгляд, перспективно исходить из представления об уровнях организации биологических систем.

В нашу задачу не входит сопоставление и оценка разных классификаций. В зависимости от цели исследования могут применяться разные принципы. Так, изучение структуры и функций морфологических типов конституций - типов онтогенеза [3] - обычно связывают с процессом роста и развития. Под ростом понимают увеличение массы или линейных размеров тела животного, а под развитием - процесс усложнения структуры организма, специализацию и дифференциацию его органов и тканей. У особей обнаружено сочетание обоих процессов, а также явление компенсации. Например, на этапе становления организма в отдельные возрастные перио-

ды преобладающее значение приобретает то один, то другой процесс. Соотношение их определяет конечный биотип организма, который зависит прежде всего от характера его онтогенеза [11]. В онтогенезе осуществляется реализация генотипа под влиянием конкретных условий внешней среды. Наследственность определяет возможности роста и развития, а условия - те конкретные особенности формы и функции организма, в которые эти возможности воплощены.

Исходя из установленных периодов эмбрионального развития (зародышевый, предплодный и плодный), на наш взгляд, определяющим в формировании конечного биотипа организма является предплодный период. Для этого периода характерны бурное развитие при относительно малом увеличении массы эмбриона и формирование плода, уже имеющего основную, присущую данному виду анатомическую дифференциацию органов и тканей. К фазам, подобным переходу интенсивного развития эмбриона в формируемый плод, следует отнести детерминации (от лат. *determinatio* – ограничение, определение). Несмотря на их широчайшее распространение и универсальность, детерминации как самостоятельную фазу формирования конституции до настоящего времени не рассматривали, хотя само явление исследовали уже давно.

Так, особого внимания заслуживают вопросы генетической детерминации онтогенеза для направленного воздействия на формирование желательных биотипов [1]. К детерминациям относятся качественные своеобразия частей развивающегося организма, образования детерминирующих фаз (до появления морфологически различных закладок тканей и органов), в известной мере предугадывающих дальнейшее развитие органов. Нарушение отдельных звеньев в строго сбалансированной системе целого в свою очередь приводит к определенным изменениям результативного признака. Но эта же целостность системы содержит в себе возможности восстановления нарушений, что приводит в равновесное состояние организм на основе реализации его генетической программы [9].

Во время становления организма характерную роль в разном возрасте играют то рост, то развитие. Определяющие эти процессы фазы также относятся к детерминациям. Обычно детерминации бывают как более, так и менее продолжительными. Вследствие этого и формы фаз неравнозначны. Так, интенсивная продолжительность роста при замедленном развитии характеризует эйриморфный биотип, а умеренная интенсивность роста и раннее развитие - лептоморфный.

Для рассмотрения эволюции типов конституции необходимо было довольно подробно остановиться на некоторых аспектах онтогенеза. Относительно же применения принципов классификации при построении общей теории конституции можно предположить, что здесь следует избрать такой подход, который бы позволил объективно характеризовать все типы конституции. В качестве главного принципа можно предложить соответствие типов конституций основным типам существующих в природе организменных систем: феногенетических (онтогенетических) на организменном

уровне организации; филогенетических - на популяционно-видовом уровне организации. Другими словами, конституции феногенетических систем (организменные конституции) - это конституциональные изменения структуры или функции в пределах нормы реакции генотипов (изучение генетических аспектов онтогенеза). Они осуществляются по типу волнообразности, ритмичности, детерминации. Конституции филогенетических систем (популяционно-видовые конституции) - групповые, в генетическом плане обусловленные нормами реакции генотипов. Они рассматриваются в единстве и взаимообусловленности с индивидуальным развитием организмов - онтогенезом.

Периодичность. В эволюционном аспекте выделяют два периода: эмбриональный и постэмбриональный. Возрастные изменения за это время, начиная с зиготы, совершаются по типу S-образной кривой (сначала рост идет по принципу самоускорения, а затем самозамедления). Эмбриональный рост организма, осуществляясь одновременно с интенсивной детерминацией зародыша и плода, представляет определенный теоретический интерес. Но в практическом отношении изучение его протекания весьма затруднительно, ибо не поддается непосредственному контролю. Одним из основных критериев интенсивности эмбрионального роста животного может быть живая масса новорожденного, претерпевающая определенную динамику в онтогенезе. Подробно этот подход получил развитие в исследованиях многих авторов [5, 10].

Процесс роста имеет колебательный характер. Кроме этого, наблюдали ритмичность роста, обусловленную спецификой индивидуального развития, сезонными ритмами окружающей среды и некоторыми другими факторами. Они неодинаково воздействуют на развитие, состояние органов и тканей организма. В результате получают особей разных биотипов с непохожей структурой интерьера, отчего зависят продуктивность и их приспособленность к определенным условиям. Наблюдаемые различия возникают в связи с особенностями развития костной, мышечной, жировой, соединительной и других тканей, а также функциональными особенностями систем организма. Большое значение придается разнонаправленности характера подобного рода колебаний: увеличение темпов роста чередуется с их уменьшением [9]. При этом периоды депрессии и подъема темпов роста могут быть неодинаковой продолжительности. Очевидно, на различных этапах развития функционируют разные генетико-молекулярные механизмы, что и определяет периодичность процесса в целом.

Учитывая сложившиеся к настоящему времени представления, можно прийти к предварительному заключению, что типы конституций формируются в процессе филогенеза, а их становление происходит в онтогенезе на базе родительской наследственности и под влиянием определенных условий внешней среды [7].

В общем формирование конституции можно представить в виде колебательного (волнообразного) процесса, амплитуда и количество периодов (де-

терминаций) которого, вероятно, связаны со структурной и функциональной особенностями систем организма.

Аналогии. Резистентность. Согласно предложенному определению сущность любой конституции – поддержание функциональной резистентности биологической системы. Это свойство более существенно, чем, например, сохранение структуры системы, выживание особей или другие проявления. Даже в тех случаях, когда структура организма нарушается, его дальнейшее функционирование обеспечивается посредством пластичности индивидуального генетического аппарата. Способность поддерживать устойчивость системы в изменяющихся условиях среды - одно из самых характерных свойств жизни [11].

Обусловленность. Изучение наследственной обусловленности морфологических различий организма представляет одну из наиболее важных и сложных задач биологической науки. Непосредственная основа индивидуального формирования особи и ее признаков - обменные и митотические процессы, которые управляются генетическим аппаратом. При сравнительной оценке конституции раздельный учет генетических и паратипических факторов, определяющих в результате признак, практически невозможен, хотя отмечены существенные различия у выращенных в одинаковых условиях генотипов [9]. Эти различия рассматриваются как генетические, так как возникли в связи с тем, что определенные биотипы по-разному использовали эти условия соответственно их наследственным особенностям.

В последнее время известную тенденцию получили исследования, в которых для большей объективности используют множество живых объектов с разноплановыми показателями. Так, для объемной характеристики особи приходится исследовать большое количество ее сечений. Из-за реализации этой задачи необходимо найти наиболее характерные возможные варианты и предельно автоматизировать их анализ.

Энергетический аспект. В результате проведенных за последние 15-20 лет работ были разработаны определенные стандарты, позволяющие отбирать наиболее желательные конституциональные типы с одинаковыми обменными процессами в организме. Согласно этим стандартам каждый тип, например, должен иметь иметь определенные размеры и соотношение структурных параметров, образующихся еще в эмбриональном периоде. Наконец, считают, что живой организм в целом стремится приобрести такую форму, при которой общая свободная энергия тела принимает минимальное значение для данных условий среды.

При построении модели с минимальной свободной энергией для каждого предлагаемого варианта пространственной геометрии биотипа необходимо оценить общую энергию и вычислить производную, с тем чтобы исследователь знал, как следует изменить структуру тела для минимизации свободной энергии. Соответственно меняют геометрию особи и корректируют процесс вычислений. С помощью такой системы вполне возможно сконструировать желательную модель биотипа для определенных природно-климатических зон страны.

Существуют методы, облегчающие изучение морфологии благодаря отождествлению данного типа с какой-либо простой геометрической фигурой (например, усеченным конусом или эллипсоидом вращения). Площадь сечения организмов различна, и по ней можно установить их объем. Однако сложность решения этой задачи состоит в том, что момент фиксации исследуемого материала застает живые организмы в разнообразных состояниях и положениях. В совокупности этих состояний как раз и отражен ход их развития. В настоящее время надо восстановить процесс индивидуального развития биотипа по периодам, предполагая, что определяющее значение при этом играют упомянутые нами ранее фазы его качественного развития — детерминации.

Конституции, отбор и эволюционный прогресс. Большинству ученых свойственно мнение, что вся органическая природа - одно сплошное доказательство тождества или неразрывности формы и содержания. Морфологические и физиологические явления, форма и функция взаимно обусловливают друг друга. Важнейшим фактором изменения генетической структуры популяции служит отбор, реализующийся благодаря огромному запасу накопленной ранее изменчивости, а также в результате пополнения этого запаса за счет спонтанного мутагенеза [1]. В популяции наземных животных решающее значение имеет искусственный отбор, направленный на повышение хозяйственно-полезных качеств особей. Однако он осуществляется в конкретных природных и технологических условиях, влияние которых вносит существенные коррективы в конечные результаты селекции. Изменение наследственности животных всегда идет по “равнодействующей” между направлением искусственного отбора и влиянием факторов окружающей среды. Чем ближе соприкасаются эти направления, тем более эффективной будет селекционная работа. Изменение условий сказывается не только на интенсивности отбора, но и на его направлении.

Условия кормления и содержания формируют совершенно различные эколого-генетические генерации, хотя оценку и отбор их ведут по одному и тому же признаку. Данное обстоятельство может быть объяснено, если принять, что способность к формированию определенного типа конституции возникла в процессе становления жизни и является таким же неотъемлемым свойством ее, как, например, обмен веществ. Иными словами, биологические конституции — это одно из проявлений саморегуляции и самоорганизации материи — свойства, присущего в той или иной мере всем уровням ее организации. Эволюционное развитие свойства конституции, как и все многообразие форм жизни и биологический прогресс в целом, связано с влиянием условий существования, наследственной изменчивостью организмов и действием отбора. Основной движущей силой формирования наследственных качеств генотипов (типов конституции) служит отбор - выделение в пределах популяции отдельных групп особей, различающихся по своим хозяйственно-полезным и биологическим качествам и в силу этого по-разному используемых в племенной работе.

Конституции по их эволюционному значению могут быть подразделены на две группы: прогрессивные, связанные с активизацией жизненных функций, и консервативные, обеспечивающие устойчивость к неблагоприятным воздействиям среды и массовость развития без повышения уровня организации.

Эволюционная последовательность возникновения конституциональных изменений структуры и функций генотипов - часть более общей проблемы эволюции. Эта чрезвычайно важная область эволюционной теории пока не получила своего развития. Надо полагать, что в этой все еще нерешенной проблеме должен не оставаться без внимания такой аспект, как эволюция типов конституций. Во всяком случае, для создания обобщенной теории конституции данный аспект имеет несомненное значение, ведь эволюционное развитие живого организма осуществляется под контолем наследственных и паратипических факторов. Подобные альтернативные влияния представляют, видимо, всеобщее явление в процессах онтогенетического и эволюционного формообразования.

Есть основания полагать, что для феногенетических (онтогенетических) систем ответные реакции генотипов на воздействие различных факторов среды в виде детерминаций, включающие качественные своеобразия организмов, - основа проявления онтогенеза. Детерминации являются определяющими и, очевидно, самостоятельными фазами формирования конституции. Они позволили создать в процессе отбора наиболее активные и быстро эволюционирующие группы организмов.

У современных организмов рассмотренные фазы часто сочетаются, поэтому конституции высокоорганизованных существ представляют собой сложную систему взаимодействий различных фаз онтогенеза.

На основании изложенного можно сделать несколько обобщенных выводов о возникновении и становлении конституции:

1. Конституция - одно из основных свойств живой системы, присущее всем типам биологических систем (всем ее структурным уровням). Сущность ее состоит в поддержании функциональной резистентности живой системы для реализации генетического потенциала в процессе онтогенеза.

2. Формирование конституции происходило, очевидно, вместе со становлением жизни как одно из первичных свойств живой системы.

3. Усложнение, многообразие и прогрессивное развитие конституции связано с действием отбора и нашло свое отражение в системах фено- и филогенетического типа (особях, популяциях, видах).

4. Можно предположить, что эволюционное преобразование конституции феногенетических систем осуществляется путем все большего усложнения детерминаций в процессе онтогенетического развития живых организмов.

5. Общий путь развития феномена конституции прослеживается от отдельных структурных элементов организма к многообразию конституций живых систем.

Литература

1. *Эйснер Ф. Ф.* Племенная работа с молочным скотом. – М.: Агропромиздат, 1986. – 183 с.
2. *Прохоров А. М. и др.* Советский энциклопедический словарь. – М.: Советская энциклопедия, 1983. – 620 с.
3. *Колесник Н. Н.* Индивидуальное развитие и конституция животных. – М.: Наука, 1964. – С. 24-28.
4. *Савчук Д. И., Полупан Ю. П.* Оценка конституции с.-х . животных // Зоотехния. – 1989. – № 4. – С. 19-21.
5. *Свечин Ю. К.* Формирование свиней различных типов конституции: Дис. ... докт..с.-х. наук. – Одесса, 1973. – 457 с.
6. *Рубан Ю. Д.* Бажані типи і племінне використання молочної худоби. – К.: Урожай, 1987. – 133 с.
7. *Серов О. Л.* Перенос генов в половые и соматические клетки. – Новосибирск: Наука, 1985. – С. 56 – 78.
8. *Шалімов М. О.* Генетичні особливості характеру реалізації в онтогенезі типів конституції тварин // Зб. наук. праць: Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. – К.: Логос, 2001. – Т.4. – С. 226 – 231.
9. *Колесник Н. Н.* Генетика живой массы. – К.: Урожай, 1985. – 183 с.
10. *Свечин К. Б.* Индивидуальное развитие сельскохозяйственных животных. – М.: Колос, 1976. – 216 с.
11. *Шмальгаузен И. И.* Кибернетические вопросы биологии. – М.: Наука, 1968. – 210 с.

М. О. Шалімов
Одеська державна академія холоду, кафедра інженерної теплофізики,
вул. Дворянська, 1/3, Одеса, 65026, Україна

ОСНОВНІ ПРОБЛЕМИ ЗАГАЛЬНОЇ ТЕОРІЇ КОНСТИТУЦІЇ ЖИВИХ СИСТЕМ

Резюме

Розглядаються основи побудови загальної теорії конституції для живих систем на всіх рівнях біологічної організації. Обговорюються принципи класифікації конституцій, роль природного і штучного відбору в їх формуванні, еволюційна послідовність виникнення детермінуючих стадій, які є попередниками феномену конституції.

Ключові слова: конституція, онтогенез, детермінація, генотип, еволюція.

N. A. Shalimov
The Odessa State Academy of Refrigeration, Department of Thermal Egineering,

1/3, Dvoryanskaya str., 65026, Odessa, Ukraine

GENERALLY CONSTRUCTION THEORY OF CONSTITUTION OF LIVING SYSTEMS

Summary

The topic under discussion is questions of generally construction theory of constitution for all levels of biological organization. The author advocate for princi ple of classification of constitution, the role of natural and artificial selection in constitution forming, evolution of determination phase and essence of phenomenon of constitution.

Key words: constitution, ontogenesis, determination, genotype, evolution.

ІСТОРІЯ НАУКИ ТА УНІВЕРСИТЕТУ

УДК

Л. І. Сьомік, канд. біол. наук, доц., **Т. В. Гладкій**, канд біол. наук, доц.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра фізіології людини та тварин,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ДО СТОРІЧЧЯ З ДНЯ НАРОДЖЕННЯ ФАЙТЕЛЬБЕРГА РАФАЇЛА ЙОСИПОВИЧА

Один з провідних фізіологів нашої країни, доктор медичних наук, почесний член фізіологічного товариства ім. І. П. Павлова, почесний професор Одеського університету, Рафаїл Йосипович Файтельберг більше 50 років працював у вузах та наукових закладах м. Одеси, з них 40 років – в Одеському державному університеті. Його ім'я добре відоме у нас в країні та за її межами. Учень професора Е. І. Синельникова та акад. Л. А. Орбелі, Р.Й.Файтельберг протягом довгої наукової та педагогічної роботи підготував 6 докторів наук та 46 кандидатів наук. Результати наукових досліджень узагальнені ним в 6-ти монографіях та 300 наукових роботах.

Рафаїл Йосипович Файтельберг народився в м. Одесі 25 грудня 1902 р. (7 січня 1903 р. за новим стилем). В 1920 р. він вступив на лікувальний факультет Одеського медичного інституту. Згодом професор Е. І. Синельников запросив здібного студента до аспірантури, що дало змогу Р. Й. Файтельбергу продовжити розпочату ще у студентські роки роботу по вивченню всмоктувальної діяльності шлунково-кишкового тракту. Цією проблемою він займався понад 60 років.

Після закінчення аспірантури Р. Й. Файтельберг працював на посаді асистента кафедри фізіології в Одеському педагогічному інституті. Саме в той час він організував і очолив фізіологічну лабораторію в психофізіологічній станції на водному транспорті в м. Одесі і проводив дослідження по фізіології праці моряків та водолазів.

В 1934 р. під час роботи в Одеському медико-аналітичному інституті йому було присуджено вчене звання доцента. Того ж року Рафаїл Йосипович познайомився з академіком Леоном Абгаровичем Орбелі і під його керівництвом розпочав дослідження по темі докторської дисертації в фізіологічній лабораторії інституту ім. П. Ф. Лесгафта в Ленінграді.

© Л. І. Сьомік, Т. В. Гладкій, 2003

Восени 1937 р. відбувся успішний захист докторської дисертації в інституті фізіології ім. І. П. Павлова, за матеріалами якої Р. Й. Файтельбергом була написана монографія "Влияние мышечной деятельности на функцию почек». Повернувшись до Одеси, Рафаїл Йосипович очолив кафедри фізіології в фармацевтичному та сільськогосподарському інститутах.

Під час евакуації Рафаїл Йосипович працює в Куйбишеві на посаді завідуючого кафедрою фізіології в педагогічному інституті. Тут він розгорнув велику наукову і науково-практичну роботу, спрямовану на виготовлення натурального шлункового соку за методом І. П. Павлова для поранених бійців.

В 1944 р. Рафаїл Йосипович переїхав до Москви на посаду завідувача фізіологічною лабораторією Інституту експертизи працездатності та організації праці інвалідів. На запрошення академіка Л. С. Штерн Рафаїл Йосипович працював майже два роки в інституті фізіології в Москві. Як справжній одесит він прагнув повернутися до Одеси. Повернувшись до рідного міста, він знову очолив кафедри фізіології в фармацевтичному і сільськогосподарському інститутах, відновив їх і дуже швидко організував нормальний навчальний процес і наукову роботу.

У 1951 р., у зв'язку з кончиною професора Е. І. Синельникова, Рафаїл Йосипович очолив кафедру фізіології людини і тварин Одеського університету.

Лекції, які читав професор Файтельберг студентам, супроводжувалися прекрасними, яскравими експериментальними демонстраціями з усіх розділів фізіолоігї.

Рафаїл Йосипович мав великий організаторський талант, йому була властива цілеспрямованість у з'ясуванні наукових проблем та безмежна любов до науки. Ці якості надихали усіх співробітників кафедри самовіддано працювати і успішно поєднувати навчальну та дослідницьку роботу, не рахуючись з часом. До наукової роботи були залучені усі співробітники кафедри: доценти, асистенти, аспіранти, лаборанти та препаратори. Їх робота була дуже плідною. В результаті відбулися успішні захисти кандидатських дисертацій: З. М. Волі, Н. К Бочарової, З. О. Алексєєвої, Л. О. Рябової, О. С. Скалацької, Л. І. Сьомік, Т. О.Єрмакової, А. Рахімбердієва, В.Д. Башева, А. Г. Соколової, М. М. Балана, Т. В. Гладкій та ін.

Під керівництвом Р. Й. Файтельберга підготували і захистили докторську дисертацію Л. О. Семенюк, С. А. Гешелін, А. І. Марченко, Нгуєн Тай-Лионг, Н. І. Гуска.

За час роботи в університеті, базуючись на результатах досліджень колективу кафедри, Рафаїл Йосипович опублікував 4 монографії з фізіології всмоктування в кишечнику, а також монографію з проблем травлення в шлунку. Багато уваги він надавав створенню в Одесі унікального цеху по отриманню натурального шлункового соку у собак.

Одеса стала центром проведення ряду українських фізіологічних з'їздів, Всеукраїнських та Республіканських конференцій та деяких симпозіумів,

присвячених проблемі фізіології та патології травлення, а також всмоктування в шлунково-кишковому тракті.

В кінці 1979 р. професор Р. Й. Файтельберг у віці 77 років вийшов на пенсію, однак зв'язків з університетом не припиняв. Завдяки його активній участі університет організував декілька Всесоюзних конференцій, присвячених пам'яті провідних вчених країни (В. І. Вернадського, А. О. Ковалевського, І. М. Сеченова, А. І. Герцена, І. І. Мечникова).

Однак науково-громадська діяльність Рафаїла Йосиповича цим не обмежувалась. Він очолював Одеську філію Українського комітету з історії та філософії природознавства і техніки. В 1992 р. Р. Й. Файтельберг підготував та опублікував першу збірку із серії "Видные ученые Одессы». Всього було опубліковано 6 таких збірок, а також збірки "Корифеи и выдающиеся деятели физиологической науки Украины и России".

Протягом багатьох років Р. Й. Файтельберг був членом редакційної ради фізіологічного журналу СРСР та Українського фізіологічного журналу, членом правління Всесоюзного та Українського фізіологічного товариств, очолював Одеське відділення Всесоюзного фізіологічного товариства ім. І.П. Павлова.

Рафаїл Йосипович був чудовим оповідачем, багато бачив, активно ділився своїми враженнями з оточуючими. За останні роки життя ним були опубліковані його твори: "Пережитое", «Очерки и новеллы», "Проблемы физиологии в художественной литературе" та інші.

Велику і неоціниму допомогу в усій діяльності Рафаїла Йосиповича надавала йому Марія Вікторівна Ульяницька, його вірний друг і любляча дружина.

Таким є далеко не повний образ нашого вчителя, видатної людини, вченого, одного із тих, хто поєднує в собі такі якості, як відданість науці, працьовитість, надзвичайну доброзичливість, невтомність, енергійність, прагнення до діяльності та просвітництва. Маючи обширні знання, він щедро ділився ними, з усіма знаходив спільну мову та порозуміння.

Помер Рафаїл Йосипович Файтельберг 2 лютого 1998 р. і похоронений на єврейському кладовищі м. Одеси.

УДК 378.4 (477.74) “1941-1944”

В. О. Кузнєцов, ст. викл.
Одеський національний університет, кафедра ботаніки,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ ОДЕСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ В ПЕРІОД ТИМЧАСОВОЇ ОКУПАЦІЇ М. ОДЕСИ (1941 – 1944 рр.)

На підставі вивчення матеріалів окупаційної преси, які зберігаються у Державному Архіві Одеської Області, свідоцтв очевидців та вивченні особистих архівів колишніх студентів та викладачів Одеського університету розглянуто особливості виникнення та функціонування університету в окупованому румунськими військами м. Одесі. Вперше друкуються документи, що висвітлюють роботу Одеського університету у той період (1941 – 1944 рр.).
Ключові слова: історія, біологічний факультет, Одеський університет, окупація.

Вивчення історії Одеського національного університету ім. І. І. Мечникова свідчить про своєрідний шлях його розвитку, який іноді дуже відрізнявся від становлення інших вищих навчальних закладів України і Росії.

Особливості існування університету у другій половині XIX — першій половині XX століть коротко описані нами в одному з попередніх випусків Вісника Одеського державного університету [15].

Особливу увагу привертають до себе події, які відбувалися в університеті під час Великої Вітчизняної війни (1941 – 1945 рр.), коли доля в одну мить обірвала звичайний хід життя, розкидала по усьому світові багатьох із тих, хто складав єдиний міцний організм навчального закладу, й поділила його на евакуйованих та тих, хто залишився на окупованій ворогом території. І якщо історії евакуації університету приділялась значна увага дослідників – опубліковані спогади колишнього ректора М. П. Савчука [26], доцента геолого-географічного факультету Ю. О. Амброз, старшого викладача філологічного факультету О. М. Болтенко, доцента П. В. Берловської та ін. [33, 34], то матеріалів, що висвітлюють роботу університету в окупованій Одесі зовсім мало, і цей період залишається білою плямою в історії вітчизняної вищої школи. Саме це визначило мету нашого дослідження - вивчити історію біологічного факультету ОНУ у період тимчасової окупації румунськими та німецькими військами м. Одеси у 1941 – 1944 роках.

Методи дослідження

Джерельна база історії університету цього періоду вкрай звужена. Ми вивчали матеріали окупаційної преси, які знаходяться на збереженні у Дер-

 © В. О. Кузнєцов, 2003

жавному Архіві Одеської Області (ДАОО), але необхідно зазначити, що вони висвітлюють цей період дуже фрагментарно й украй заідеологізовано. Тому для більш об'єктивного відображення цих подій ми звернули особливу увагу на пошуки очевидців та особистих архівів колишніх викладачів, співробітників і студентів, які вчилися й працювали в університеті у той період. Нами вивчені архіви, які зберігаються у родинах М. П. Савчука, П. І. Єгорова, І. Г. Гурського, Р. Я. Вейберт, Н. М. Пашковської, Г. Й. Потапенка.

Проведено дослідницькі бесіди та інтерв'ю з людьми, які навчалися в університеті в період окупації: І. Г. Гурським, Н. М. Пашковською (студенти факультету Точних наук), Р. І. Вейберт (студентка Історико-філологічного факультету), а також із дочкою декана факультету Точних наук проф. Г. Й. Потапенка, яка разом із батьками знаходилась в окупованій Одесі, — С. Г. Потапенко.

Цікаву інформацію дав аналіз конспекту лекції "Історія Одеського університету у період окупації", прочитаної співробітникам наукової бібліотеки професором К. П. Добролюбським [9], яка була законспектована, збережена і передана для ознайомлення автору колишнім головним бібліографом наукової бібліотеки ОНУ В. С. Фельдманом.

Професор К. П. Добролюбський у період війни знаходився в евакуації у м. Самарканді, але до і після війни працював в Одеському університеті, особисто знав викладачів і студентів і мав змогу спілкуватися з безпосередніми свідками, які працювали в університеті під час окупації. Враховуючи те, що К. П. Добролюбський — професіональний історик (доктор історичних наук) і дуже скрупульозний дослідник, ми вважали за необхідне уважно ставитись до фактів, які він наводив у своїй лекції. Випадки, коли його дані не співпадали з іншими джерелами, виділені нами у тексті окремо.

Для зручності сприймання тексту усі цитати з російськомовних джерел перекладені на українську мову.

Автор глибоко вдячний усім, хто допомагав йому у відтворенні історії одного з найскладніших періодів у розвитку біологічного факультету Одеського національного університету.

Результати дослідження та їх аналіз

"Продуктивно і з великим піднесенням колектив університету завершував 1940-1941 навчальний рік, — пригадував у своїх спогадах ректор університету професор М. П. Савчук. — Уже закінчились державні іспити, й екзаменаційні комісії підводили підсумки та складали звіти про роботу. Усі планували свої літні відпочинки.

22 червня 1941 року, неділя... Ранок був чудовий і обіцяв звичну для Одеси червневу спеку. Приємно було поринути у прохолоду моря, куди перші трамваї везли відпочиваючих. (...) Ніщо не віщувало біди. Але опівдні пляжі обезлюднились, рибацькі човни потяглись до своїх причалів. Блискавично поширилось повідомлення, що гітлерівські фашисти віроломно напали на Радянський Союз. (...)

Почалась Велика Вітчизняна війна, а з нею і новий етап в історії Одеського Державного університету. (...)

У зв'язку з тим, що військові події швидко розвивались і ворог наближався до Одеси, у другій половині липня постало питання про евакуацію університету. (...)

Залізницею виїздити було вже пізно - колія обстрілювалась німецькою артилерією, і тому студенти й частина викладачів вирушила до місця призначення пішки по узбережжю Чорного моря, щоб перебратися через Дніпро. Останнім пощастило виїхати морем. Морем була відправлена також необхідна для роботи література й обладнання для навчальної та наукової роботи природничих факультетів.

З 15 вересня університет розпочав нормальну навчальну роботу (у м. Майкоп, Адигейської автономної області), провівши набір студентів на перші курси в кількості 180 чоловік. Усього в цей час нараховувалось 1100 студентів на всіх 6-ти факультетах: історичному, філологічному, біологічному, хімічному, фізико-математичному та географічному" [25].

Таким чином, ми бачимо, що у складі університету були евакуйовані близько 900 студентів. За даними на 1940-1941 навчальний рік університет нараховуваввав 2488 студентів, але не всі вони мали змогу продовжувати навчання. Дехто записався добровольцем у Червону Армію, інші евакуювались з батьками в інші регіони Радянського Союзу. Певна ж кількість студентів, за різними обставинами, не змогла покинути міста і вимушена була залишитись в Одесі та очікувати приходу ворожих військ [19].

"Місто обстрілювалось гарматами, фашистські літаки кидали запальні бомби, - пригадує колишній студент біологічного факультету І. Г. Гурський, - ми з Валентином Губським, батько якого був у ті часи комендантом університету, і ще кількома студентами, вдень працювали у колгоспі "Суха гребля" Доманівського району, Одеської обл. (нині Миколаївська обл.), допомагали збирати врожай, а ночами чергували в університеті - скидали на землю запалювальні бомби, які попадали на дах.

Під час польових робіт у полі у липні, я сильно поранився й захворів на правець, тому не пам'ятаю, як увійшли у місто румунські війська, бо саме у цей час знаходився у важкому стані хвороби."

Треба зазначити, що Степану Опанасовичу Губському та його дружині Феодосії Тимофієвні університет зобов'язаний збереженням головного корпусу, багатьох матеріальних цінностей у ті страшні часи початку війни і у подальший період окупації.

Після війни, вони обидва були репресовані. Їх звинуватили у тому, що вони розбили за наказом румунських військових погруддя Й. В. Сталіна, яке знаходилося у приміщенні зоологічного музею. І нікого не цікавило, що саме цей вчинок допоміг уникнути розгрому самого музею.

Заслуги цих людей перед університетом високо цінував М. П. Савчук, який після війни, незважаючи на всю небезпеку особисто для себе, не злякався зарахувати студентом до біологічного факультету В. С. Губського – сина цих двох "ворогів народу" [3].

Ще одна очевидиця початку воєнних подій у місті — Н. М. Пашковська — розповідає: "Ми, разом з батьком тричі ходили з валізами на евакопункт, але в перший раз була величезна черга і нам не вистачило талонів, у другий — почався сильний обстріл міста, пункт зачинився, а всі люди, що стояли у черзі, розбіглися до бомбосховищ. Третій раз, вже перед самим відходом наших, нам не видали талонів, тому що ми були росіянами, а був наказ у першу чергу відправляти євреїв, бо вже стали відомі факти про масові їх знищення, що чинили окупанти на захоплених територіях.

Відхід радянських військ з Одеси почався 15 жовтня увечері.

Усюди палали будинки, а води, щоб гасити вогонь, не було. Усі мешканці нашого будинку (Дерибасівська, 13), всю ніч стояли на верхніх поверхах будівлі і гасили іскри, які скрізь летіли з пожеж. Палало все з усіх сторін. Мій батько, на той час уже сліпий, носив знизу пісок, а ми з мамою засипали полум'я, яке спалахувало на даху.

Наступного дня, десь після опівдня, з'явились румунські окупанти. На вулицях ходили патрулі, людей заарештовували за найменшою підозрою" [2].

Зовсім з іншим настроєм описували ці події кореспонденти румунських військ у місцевій пресі. Ідеологічна концепція окупантів була протилежною – необхідно було показати велику визвольну роль Румунських військ, які ціною власної крові звільнили від "....жидо-більшовицького терору населення Одеси і назавжди принесли волю і щастя місцевому населенню"[30].

Щоб підтвердити свою "визвольну" місію перед світовою спільнотою, румунській адміністрації необхідні були практичні заходи, які б засвідчили нормалізацію життя в окупованому місті. І вони, незабаром, стали їх проводити з величезною помпезністю.

У перші дні після призначення керівником шкільно-культурної Дирекції (у подальшому перейменована у Дирекцію культури та освіти) Помічника Міського Голови, Костянтина Відрашку, він розпочав активну діяльність з організації роботи шкіл, гімназій, церков, театрів та вищих навчальних закладів.

Від імені губернатора Трансністрії професора Алексяну він звернувся до одного з найвідоміших у місті вчених, професора Павла Георгійовича Часовникова з пропозицією:

"Пане професоре П. Г. Часовников!

Маю честь повідомити Вас, що постановою маршала І. Антонеску №5118/941 призначаєтесь на посаду ректора університету. Просимо вас надіслати список кандидатів для керівництва в якості деканів факультетів та інститутів".

Часовников описував цю подію таким чином: "Чиновнику, що прийшов до мене, я заявив, що займатися адміністративною роботою у великих обсягах я утруднююсь. Але на наступний день мене викликав губернатор Алексяну і підтвердив, що я не маю права відмовлятися від призначення і не виконувати наказ..." [Цит. за 27]. Тут, мабуть помилково, Часовников по-

силається на губернатора Алексяну, який уперше відвідав Одесу 7 грудня 1941 року.

Для того, щоб забезпечити необхідну для відкриття університету кількість студентів і викладачів, було вирішено включити до складу Університету всі довоєнні вищі навчальні заклади Одеси на правах факультетів. Оскільки професор П. Г. Часовников за радянські часи обіймав посаду завідувача факультетською клінікою медичного інституту і добре знав викладачів-медиків, то у першу чергу почали відновлювати роботу медичного факультету.

4.12.1941 в "Одесской газете" з'явилося оголошення:

"У зв'язку з відновленням навчання на Медичному факультеті всім студентам другого, третього курсів, а також заурядлікарям пропонується зареєструватись у канцелярії факультету (Валеховський пров., 2).

Там же здійснюється прийом заяв від усіх осіб, які бажають вступити до першого курсу факультету і мають завершену середню освіту.

Декан Медичного факультету

Професор П. Часовников" [4].

Усім зареєстрованим були видані спеціальні запрошення-перепустки і наказано з'явитися 7 грудня об одинадцятій годині у велику аудиторію Медичного факультету, де відбудеться урочисте відкриття Одеського університету.

Щоб надати більшої урочистості й значущості цій події, на відкриття університету "...прибув Пан Цивільний Губернатор Трансністрії професор Алексяну, вищі чини Румунського і Германського Військового Командування в Одесі, Міський Голова п. Пинтя та ряд інших військових та цивільних керівників; одночасно також прибуло духовенство на чолі з архімандритом о. Іулієм " [22].

Губернатор виступив з великою промовою, яку завершив такими словами:

"...Спокій і світло після бурі і темряви – ось що ми вам принесли. Натомість ми очікуємо від вас чуйності, розуміння та віри.

З цією думкою оголошую відкритим академічний 1941 – 1942 рік" [29].

У ці ж дні не менш урочисто були відкриті оперний театр і кафедральний собор.

І хоча де-юре Одеський державний університет почав свою роботу в окупованому місті 7 грудня 1941 року, де-факто перші лекції відбулися тільки 16 лютого 1942 року, і лише на двох факультетах - медичному і політехнічному (створених на базі відповідних довоєнних інститутів) [10].

Наприкінці березня лекції почались також на агрокультурному факультеті.

Усі газети запрошували викладачів, студентів і абітурієнтів. Проте бажаючих працювати і вчитися було обмаль для відкриття запланованих семи факультетів: Богословського, Медичного, Фізико-математичного, Політехнічного, Агрокультурного, Літературно-філософського та Юридичного (Рис. 1).

16 декабря 1941 г. № 17.

В СВЯЗИ С НАЧАЛОМ АКАДЕМИЧЕСКОГО ГОДА

ОДЕССКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ОБЪЯВЛЯЕТ ПРИЕМ СТУДЕНТОВ НА СЛЕДУЮЩИЕ ФАКУЛЬТЕТЫ:

1. **Богословский — только на 1-ый курс.** Ул. Михаила I (б. Преображенская) д. 24, от 10 до 1 часу.

2. **Медицинский**—на все курсы. Валиховский пер. 2, от 10 до 1 ч.

3. **Физико-математический** (отделения: математическое и естественных наук)—на все курсы. Ул. Петра Великого 2, от 10 до 1 ч.

4. **Политехнический** (отделения: 1) пищевой промышленности, 2) механическое, 3) строительное и 4) водно-транспортное) — на все курсы. Херсонская 60, от 3 до 4 ч.

5. **Агрономический** — на все курсы. Новорыбная ул. 13, комн. 20, от 9 ч. до 3 ч.

6. **Литературно - философский** — на все курсы. Ул. Михаила I д. 24, от 10 до 1 ч.

7. **Юридический**—только на **курс.** Ул. Михаила I д. 24, от 10 до 1 ч.

Поступающие на 1-ый курс к прошению на имя г. Ректора прилагают: 1) аттестат об окончании средней школы, 2) метрическое свидетельство, 3) обстоятельную автобиографию, 4) три фотокарточки и 5) лично предъявляют паспорт.

Студентам бывших институтов, соответствующих ныне университетским факультетам, (Пед. Институт, Водный, Сельско-Хозяйственный и др.), а также **заурядврачам** предлагается срочно зарегистрироваться в канцеляриях соответствующих факультетов.

Ректор Одесского Университета
профессор **П. Г. ЧАСОВНИКОВ.**

Рис. 1. Об'ява у місцевій газеті про оголошення прийому студентів до університету (Одесская газета, 16 декабря 1941 г.).

Щоб залучити молодь до навчання в університеті, 14 лютого 1942 року відкрито підготовчі курси, всім випускникам яких надавалося право бути зарахованими на будь-який факультет без вступних іспитів [16]. Доречі, треба зазначити, що на підготовче відділення, за свідченням Н. М. Пашковської, приймали навіть тих, хто мав неповну середню освіту [2].

Коли засоби заохочення були вичерпані, Дирекція культури й освіти перейшла до примусових заходів. 11 квітня 1942 року у міський газеті з'явилось оголошення: "Одеський університет запрошує всіх викладачів вищої школи, не зайнятих роботою в Університеті, з'явитися в канцелярію Університету до 28 травня ц.р.. (Валеховський пров., №2) для подання відомостей, необхідних для обліку професорсько–викладацького персоналу.

Обліку підлягають: ті, хто ніде не працює, а також ті, хто працює поза Університетом. Відомості необхідні для подання пану Губернатору Трансністрії.

Ректор Університету, професор Часовников" [20].

На фоні інших оголошень, які тут же повідомляли про скасування життя за порушення розпоряджень пана Губернатора, це "запрошення" виглядає, як загроза про страту у випадку його невиконання.

Необхідно звернути увагу на ті факти, що ні один з довоєнних факультетів у 1941/42 н.р. не розпочав своєї роботи, і навіть ректорат нового навчального закладу у перший рік існування розміщувався поза приміщеннями довоєнного університету. Це чітко прокоментував у свій час М. П. Савчук: "...окупанти використали, з пропагандистською метою, вивіску Одеського державного університету, яку ми, у суматосі зборів, забули зняти з будівлі головного корпусу"[25].

Щоб виправити це становище, новій владі було вкрай необхідно організувати роботу суто університетських факультетів і залучити до навчального процесу хоча б декілька колишніх студентів і викладачів, які залишилися в Одесі. Враховуючи ці обставини, з квітня 1942 року адміністрація розпочинає кампанію з набору студентів на 1942 – 1943 навчальний рік. Муніципалітетом було упроваджено заходи, які б змусили викладачів зареєструватися й вступити на службу в університет:

— організаціям і установам заборонялося працевлаштовувати співробітників і викладачів вищої школи, що позбавляло їх засобів існування;

— усім викладачам і студентам були видані Посвідчення, які звільняли, "... у відповідності до §8 наказу №26 Губернаторства Трансністрії, від трудової повинності на весь час роботи в Університеті", це давало змогу молоді запобігти угону в Німеччину (Рис. 2) [31,36];

— при пред'явленні університетських посвідчень або студентських квитків поліцейські патрулі не затримували співробітників і студентів навіть при облавах, що відіграло велику роль в організації підпільної роботи" [2];

— в Університеті було відкрито кооператив, який забезпечував продуктами університетський персонал. Для його потреб Губернаторство виділило дотацію в 20000 РККС та вантажівку. Це давало можливість співробітникам прогодувати свої родини.

З 1 серпня місцеві газети сповістили про оголошення набору в Одеський Державний університет. До університету приймалися: "Всі чоловіки й жінки до 30 років, які закінчили гімназію з 8 класів, радянську десятирічку, радянські технікуми та спеціальні підготовчі курси при Політехнічному фа-

культеті університету. Ті особи, що закінчили радянські робітфаки і фельдшерські школи, в Одеський університет не приймаються” [14].

GUVERNAMANTUL TRANSNISTRIEI

DIRECTIA MUNCII

Serviciul Muncii de folos obstesc, Alimentatie si Zagarul de Internare la Odesa

Nr. 9429/948-K

ADEVERINTA

D. Egorov

Pavel domiciliat in Odesa

str. Otradnaia Nr. 8

angajat in serviciul

la Universitatea Odessa

In conformitatea cu dispozitiunile art. 8 din ordonanta Nr. 26 a Guvernamantului Transnistriei, este scutit de alta munca de folos obstesc, pe timpul cat lucreaza la susnumita Institutie—Intreprindere.

Odesa la 22.I. 1943

SEFUL SERV. MUNCII la Odesa

УДОСТОВЕРЕНИЕ

Г. Егоров

Павел проживающий в г. Одессе на Отрадной ул. № 8 и работающий в Одесском Университете

Освобождается, в соответствии с § 8 приказа № 26 Губернаторства Трансністрии, от трудовой повинности на все время работы в данном учреждении—предприятии.

CERTIFICARE Institutiei-Intreprinderii

Рис. 2. Посвідчення викладача біологічного факультету П. І. Єгорова. Оригінал (180x140 мм), друкується вперше.

Улітку 1942 р. була проведена реорганізація підрозділів університету. 25 серпня 1942 року газета “Одесса” повідомляла: “За розпорядженням Губернатора професора Алексяну, Одеський Державний університет розпочинає другий навчальний рік у звільненій від жидо-більшовизму Трансністрії у складі 5 факультетів: Медичного, Політехнічного, Фізико-математичного, Літературно-філософського та Юридичного” [32].

Агрокультурний факультет відокремився навесні 1942 року у самостійний навчальний заклад, а на Богословський не було подано жодної заяви.

“Деканами нових факультетів Одеського Державного університету призначені:

Фізико-математичний – професор Потапенко,

Історико-філологічний – професор Соколов,

Юридичного – професор Фаас” [17].

Новий навчальний рік розпочався 28 вересня. “Загальна кількість студентів в Університеті, включно зі студентами V курсу, які закінчують уні-

верситет у першому півріччі 1942 – 1943 н.р., складала – 1549” [7]. На фізико-математичний факультет було зараховано 128 студентів, з них 88 – природниче відділення, 40 – математичне.

Студенти першого курсу приступили до занять за університетськими навчальними планами лише у другому семестрі у зв’язку з тим, що всі колишні радянські громадяни повинні були на протязі першого півріччя скласти іспити в обсязі 8-класної гімназії із Закону Божого, румунської та латинської мов, історії та географії Румунії [1, 11, 12, 35, 37].

Н. М. Пашковська, яка на той час була студенткою першого курсу (Рис. 3,4), пригадує: “Природниче відділення Фізико-математичного факультету (з 29 вересня 1942 р. Факультет точних наук) було розташовано у головному корпусі університету, по вулиці Петра Великого, №2 (Дворянська, 2). На першому поверсі знаходився музей і лабораторії, де нам читав лекції із зоології безхребетних професор Олександр Ромулович Прендель, анатомка (там, де зараз буфет), аудиторії, в яких ми слухали лекції з анатомії людини. Практичні заняття проводила Зінаїда Михайлівна Воля. На другому поверсі знаходилися лекційні аудиторії, гербарна кімната, а останні двері зліва по коридору – це була улюблена аудиторія №62. Вона була найсвітліша, і мабуть тому здавалося, що й найтепліша. В ній завжди було дуже багато кімнатних рослин, за якими доглядала препаратор Пилипенко Єфросинія Савівна. Біля вікна, що виходило на вулицю Пастера, на колоні висіла рама, на яку розвішували таблиці перед лекціями.

Рис. 3. Студентський квиток Н. М. Пашковської. Оригінал (95х70 мм), друкується вперше.

На першому курсі нас, студентів-природничиків, було осіб 50, з них десь 15 – біологів. Ми вивчали анатомію людини, мінералогію та кристалографію, німецьку мову, фізику, математику, ботаніку, зоологію, неорганічну хімію. Заняття починалися о 9 годині ранку, і кожен день було по три пари” [2, 12].

Рис. 4. Залікова книжка студентки Н.М. Пашковської. Оригінал (100х160 мм), друкується вперше.

"На старший курс, — пригадує І. Г. Гурський, — було зараховано тільки чотири студенти: я, Ася Квак та Зинов'єва Таісія. Незалежно від того, на яких спеціалізаціях ми були у довоєнний час, нас усіх записали на кафедру ботаніки і майже всі спеціальні дисципліни читав завідувач кафедри, професор Г. Й. Потапенко.

Студентам усіх факультетів і курсів обов'язково читали курс Богослов'я. Лекції відбувалися у великій медичній аудиторії, де збиралась велика кількість студентів. Ці лекції ми використовували для розповсюдження листівок та іншої конспіративної роботи. Тут можна було отримати інформацію про повідомлення "Совінформбюро". Обов'язковою для всіх факультетів була також історія Румунії, а для факультетів точних наук і географія Румунії. Оскільки серед місцевих викладачів спеціалістів з історії Румунії не було, то лекції читав префект поліції П. Ільїн. З 1943 р. цей курс викладав професор Ясського університету А. Болдур. Всі студенти й викладачі повинні були обов'язково вивчати румунську мову" [3, 9].

Професор К. П. Добролюбський відзначав: "При вступі до університету необхідно було представити свідоцтво про етнічне походження та довідку про відвідування літніх курсів румунської мови.

Студенти сплачували за навчання 400 марок (окупаційних). Для чиновників румунської адміністрації, службовців та робітників муніципальних підприємств (електростанція, водопровід) були пільги і вони сплачували від 75 до 150 марок. Повністю звільнялися від оплати румуни, молдавани та італійці" [9].

Треба зазначити, що ніхто з колишніх студентів факультету точних наук не міг пригадати, чи сплачували гроші за навчання. І хоч в залікових книжках студентів була спеціальна графа, в якій необхідно було робити позначку про сплату або про звільнення від неї – ці графи в оригіналах залишилися незаповненими. Респонденти відзначали, що вони просто навіть і не мали таких грошей [11, 12].

Факультетом керувала Рада факультету на чолі з деканом, але всі постанови підлягали затвердженню Сенатом університету. До його складу входив секретар, який призначався губернатором з числа чиновників Дирекції культури й освіти. Адміністративно-господарськими справами керувало Правління Університету. Обов'язки секретаря правління виконував Кирсанов Павло Миколайович. Існував також інститут інспекторів, які слідкували за поведінкою студентів та відвідуванням ними занять.

Студентські гуртожитки були заборонені. Газета "Одесса" від 7 серпня 1942 р. роз'яснювала: "У зв'язку з оголошенням прийому до Одеського Державного Університету нових студентів нас просять відзначити, що при університеті студентських гуртожитків існувати не буде. Проживання студентів у гуртожитках відриває їх від родини й суспільства, розвиває шкідливу уособленість і сприяє розвитку серед молоді хибних нахилів та навичок" [28].

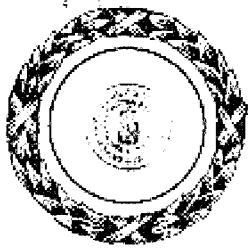
Вивчаючи архівні документи, нам не вдалося виявити матеріалів, які б свідчили про проведення вченими університету активної наукової роботи і знайти наукові праці, які були б видані у той період. Але в особистому архіві професора Г. Й. Потапенка збереглася Виписка з протоколу засідання Ради факультету Точних наук від 11.11.1943 р., на якій відбувся захист дисертації на здобуття вченого ступеня доктора біологічних наук з теми "Растительность Северо-Западного побережья Черного моря". Дисертантом був Г. Й. Потапенко, опонентами професор Г. Боровиков та доцент Л. Климентов. Головував проф. Є. Синельников [5].

Збереглася також Виписка з наказу №8 по Одеському університету від 13 січня 1944 р. яка свідчить про те, що на підставі рішення Ради факультету, відповідних постанов Сенату Університету та затвердження Дирекції Культури Губернаторства Професору Потапенко Георгію, завідувачу кафедри ботаніки надається вчений ступінь доктора біологічних наук. При вивченні Диплому (Рис. 5), який був виданий Г. Й. Потапенко, звертає на себе увагу той факт, що він виготовлений вручну, за допомогою пера, а не типографським засобом – це дає підставу припустити, що захист відбувся поодинокий [6, 8].

Великий інтерес викликає ще один документ – поздоровлення професора Г. Й. Потапенка з успішним захистом дисертації від співробітників

ДИПЛОМ.

Профессор Потапенко Георгий Иосифович защитил в открытом заседании Факультета Точных Наук Одесского Университета 11-го дня ноября месяца 1943 года диссертацию под заглавием: „Растительность северо-западного побережья Черного моря", представленную им на соискание степени ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК, единогласно удостоен сим Факультетом ученой степени ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК, утвержден в сей степени Сенатом Одесского Университета в заседании от 30-го дня ноября месяца 1943 года и Дирекцией Кулевуры Просвещения Министерства 7-го дня января месяца 1944 года. В удостоверение всего вышеизложенного выдан ДОКТОРУ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК — профессору Потапенко Георгию Иосифовичу сей диплом за надлежащими подписями и с приложением печати Одесского Университета. Одесса, 10-го дня марта 1944 года.



Ректор Одесского Университета

Декан Факультета Точных Наук

Генеральный Секретарь Университета

Рис. 5. Диплом про присвоєння Г.Й. Потапенко наукового ступеня Доктора біологічних наук. Оригінал (420x300 мм), друкується вперше.

Природничого відділення, який дає змогу визначити за автографами персональний склад викладачів: Є. Синельников, О. Прендель, Г. Боровиков, П. Павлов, Я. Тренейзе, О. Філіпова, В. Бібер, Е. Лопатто, Є. Рутковська, Г. Яворська, Д. Душко, С. Бєлодєд, Н. Іванова, Є. Гапонов, О. Щербина, К. Столяров, С. Ляшенко, А. Чернишенко, Л. Климентов, К. Покровський, Н. Васильєв, Г. Костанди, З. Воля, Л. Семенюков [23, 18].

Активну участь приймали співробітники факультету точних наук у підпільній роботі. Про це свідчать документи, які були знайдені в особистому архіві П. І. Єгорова. Під час окупації він обіймав посаду директора карантинної лабораторії і за сумісництвом працював у зоологічному музеї університету. У "Короткому звіті начальника партизанської ланки 8-го району, загону ім. Сталіна Шелягіна О. М." засвідчується, що П. І. Єгоров проводив активну роботу у підпіллі: "... до складу групи я залучив і директора карантинної лабораторії, доцента університету т. Єгорова П. І., у розпорядженні якого знаходився будинок, у якому ми мешкали (...). Він забезпечив мене документом, з яким я міг проживати у м. Одесі (...)" [13].

Як видно з цього звіту, П. І. Єгоров особисто постачав з університету повідомлення Совінформбюро, які передруковувалися на машинці карантинної лабораторії і розповсюджувалися серед населення. За дорученням керівництва загону він роздобув великомасштабну карту і фіксував на ній стан і переміщення фронтів та виконував багато інших завдань [13].

І. Г. Гурський пригадує: "...багато хто зі студентів виконували доручення партизанського загону, який знаходився у катакомбах. Але ми дізнались про це лише тоді, коли за наказом керівництва, восени 1943 р. опинилися у катакомбах і зі зброєю в руках допомагали Радянській Армії звільняти рідне місто від загарбників". До речі, в одній трійці з І. Г. Гурським у підпіллі працював студент факультету точних наук, а в подальшому професор Одеського політехнічного інституту М. В. Дівари [3].

Окупанти робили спроби перетворити університет у центр антикомуністичної пропаганди. Заохочували викладачів до співпраці у газетах, на радіо та пропонували інші види пропагандистської роботи. Професор К. П. Добролюбський наводив приклад одного з таких заходів: "У грудні 1942 р. в університеті було оголошено конкурс наукових робіт з тем:

1. Спогади з часів більшовицького режиму (для літераторів та журналістів).

2. Історія жахів, що коїлися більшовиками (для істориків).

3. Ідеологічна критика Марксизму-Ленінізму (для істориків, економістів, юристів, філософів).

За найкращі роботи Губернатор призначив премії: I – 1000 марок, II – 500 марок, III – 200 марок. Але бажаючих виявилося дуже мало"[9].

Для активізації та координації політико-виховної роботи 16 травня 1943 р. було створено "Інститут антикомуністичних досліджень". Відвідування лекцій, що проводилися лекторами цього закладу, для професорів було за бажанням, а для всіх інших викладачів і співробітників — обов'язковим.

Уже навесні 1942 року навчальна робота університету почала давати збої. На настрій студентів і викладачів впливала інформація про успіхи Радянської Армії на фронтах, тому Дирекція культури та освіти видала наказ адміністрації університету звільняти викладачів, які вороже ставляться або пасивно відносяться до антикомуністичної боротьби, незважаючи на їх наукові заслуги.

1943 – 44 навчальний рік розпочався у звичайних обставинах. Як пригадують очевидці, складалося враження спокійної навчальної роботи, але десь з середини осіннього семестру почала відчуватися деяка нервозність з боку адміністрації і розповсюдилися чутки про підготовку до вивозу обладнання університету та евакуації викладачів до Румунії. Бажаючих були одиниці, серед них були ті, хто займав посади в адміністрації університету. Г. Й. Потапенко пояснював, що окупанти переконали їх у тому, що радянські військові обов'язково розстріляють, під гарячу руку, всіх посадових осіб, "...тому ми вирішили на якійсь час зникнути з Одеси, а коли налагодиться нормальне життя – повернутися" [21].

Основна частина викладачів і співробітників почала проводити активну роботу по збереженню матеріальних цінностей університету, які були заплановані до вивозу.

Як свідчать записи у залікових книжках студентів, зимова сесія розпочалась у середині січня 1944 р. і продовжувалася до середини лютого, а з 1 березня було призначено початок весняного семестру [11]. Хоч представники окупаційної влади проводили збори викладачів і студентів, на яких запевняли, що успіхи Радянської Армії - тимчасові, а окупаційна влада стабільна, заняття відвідували поодинокі студенти. Для того, щоб якось зберегти власне "реноме" і відновити відвідування лекцій і практичних занять, 15 березня 1944 року в університеті було проведено урочисте вручення дипломів першим випускникам окупаційного університету (Рис. 6) [38].

Усі відчували близький кінець окупації. Викладачі й студенти прикладали максимум зусиль для збереження матеріальної бази університету – ховали найбільш цінні експонати музею у купи зі сміттям, заривали обладнання у землю, розносили по домівках найбільш цінні прилади, препарати і книги на той випадок, якщо приміщення університету будуть зруйновані.

Ректор Одеського державного університету М. П. Савчук, який разом з Радянськими військами прибув до Одеси, писав в листі до своєї родини, що знаходилася в евакуації у Байрам-Алі у складі університету: "Бібліотека і музеї залишилися, хоч дещо цінне мамалижники вивезли – доведеться в Румунії шукати й повертати.

З обладнання також немало вивезено, а багато було заховано, особливо фізики молодці – дещо закопали, хоч за це 2-х фізиків замучили гади – загинув Чернюк і Кандагура – їх призренні фашисти розстріляли.(...)

В університеті, тут – в Одесі, почали заняття 21/IV; – є 360 студентів і чоловік 50 наукових робітників" [24].

Nr. 105

ROMANIA

UNIVERSITATEA DIN ODESA

Diplomă de Licență în Științele Naturale

în numele MAJESTATII SALE REGELUI MIHAI I-iu.

Gurschi G. Igor

D-lui Gurschi G. Igor

1920 Iulie

28 în Comuna Razdelnaica

Odesa

Biologie

media „Bine"

Odesa, anul 1944 luna Martie ziua 15

Рис. 6. Диплом про закінчення університету І. Г. Гурського. Оригінал (300×300 мм), друкується вперше.

І. Г. Гурський пригадує: “У перші дні після визволення міста ми допомогали розбирати руїни, гасити пожежі та виконували різні роботи за наказами командування. Через декілька днів нам дозволили провідати наші родини. По дорозі додому ми пішли подивитися, чи зберігся головний корпус університету, бо ходили чутки про те, що фашисти його замінували і при відході зірвали. Нас дуже здивувало, що університет не тільки зберігся, а навіть уже працював – складалися списки студентів, реєструвалися викладачі і т. ін.

Ми дуже зраділи, коли побачили у приміщенні головного корпусу (Дворянська, 2), ректора нашого університету – Миколу Панасовича Савчука. Він розповів про те, що викладачі й студенти продовжували працювати у Туркменії і незабаром будуть повертатися, що в Одесі через декілька днів

розпочнуться заняття і нам необхідно наздоганяти витрачений час, щоб разом з усім університетом продовжити навчання у новому навчальному році.

Всі курси з спеціальних дисциплін, що читалися в університеті в часи окупації, були перезараховані, але нам необхідно було скласти іспити з дисциплін академічної різниці (в основному - із суспільно-політичних наук). Через декілька днів уже почалися лекції" [3].

На молодших курсах (у зв'язку з тим, що заняття в період окупації розпочинались з другого семестра, становище ще більше ускладнювалося – необхідно було наздоганяти цілий семестр. Н. М. Пашковська пригадує: "Іспити за весняний семестр у 1944 році ми складали частково уже тим викладачам, які поверталися з евакуації. М. П. Савчук дозволив улітку за два місяці прослухати дисципліни IV семестра. Восени ми склали іспити і разом зі студентами III курсу, які повернулися з евакуації, продовжили навчання у новому навчальному році" [2].

Висновки

У період Великої Вітчизняної війни колектив Одеського університету був евакуйований у м. Майкоп Адигейської АО, а потім у м. Байрам-Алі, де працював під керівництвом ректора професора М. П. Савчука.

Використавши ті обставини, що невелика частина викладачів, співробітників і студентів, а також навчально-матеріальна база Одеського університету опинилася в окупованому місті, румунська військово-окупаційна влада у 1941 р. зробила спробу розпочати навчальний рік і організувати під назвою "Одеський державний університет" вищий навчальний заклад, до якого планувалося об'єднати всі 17 Одеських довоєнних вузів.

У перший окупаційний навчальний рік (1941/42 н.р) розпочались заняття тільки на двох із семи запланованих факультетів – Медичному та Політехнічному, які були створені на базі відповідних довоєнних вузів Одеси. Ні один з власне університетських факультетів так і не почав своєї роботи.

У результаті низки заходів, що були заподіяні окупантами і вимусили співробітників і викладачів зареєструватися і приступити до роботи у 1942/43 навчальному році, факультет Точних наук, до складу якого увійшли всі природничі й математичний факультети довоєнного університету, розпочав заняття. Реально природниче відділення пропрацювало неповних три семестри і зробило один випуск студентів.

Надаючи університету важливе пропагандистське значення, окупаційна влада надавала деякі пільги студентам та співробітникам університету (броня від угону молоді до Німеччини, вільне переміщення по місту, звільнення від суспільно-корисних робіт, організація продовольчого кооперативу). Ці пільги були використані викладачами, співробітниками і студентами природничого та інших відділень і факультетів для організації підпільної роботи в тилу ворога, збереження матеріальних цінностей університету.

У 1944 році, після реевакуації основного складу університету з м. Байрам-Алі (Туркменська РСР), колектив університету знов об'єднався і продовжив свою навчальну й наукову роботу.

Викладачі та співробітники, які були призначені окупантами на керівні посади в окупаційному університеті, були репресовані, а ректор П. Г. Часовников страчений як "ворог народу".

Предмети, що вивчалися студентами в окупаційному університеті, цим студентам були перезараховані, і після складання академічної різниці їх переводили на відповідні курси, але клеймо "той хто був в окупації" залишалося і супроводжувало їх на протязі всього життя.

Література та документи

1. Билет № 27 на право входа в здание Одесского университета, 24 октября, 1942 г. — Оригинал. Личный архив И. Г. Гурского
2. Воспоминания Пашковской Н. М., 2000. — Архив Зоологического музея ОНУ.
3. Воспоминания доцента кафедры зоологии, биологического факультета ОНУ И. Г. Гурского. Рукопись. 2000. — Архив Зоологического музея ОНУ.
4. В связи с возобновлением занятий.... // Одесская газета. — 1941. — 4 декабря (№ 13), ГАОО.
5. Выписка из протокола № 31 заседания Совета факультета Точных наук от11/XI 1943. Оригинал. Личный архив семьи Г. И. Потапенко.
6. Выписка из Приказа № 8 по Одесскому Университету от 13-го января 1944 г. Оригинал. Личный архив семьи Г. И. Потапенко.
7. В Университете // Одесса, — 1942.- 26 сентября. (№ 132), ГАОО.
8. Диплом доктора биологических наук Потапенко Г. И. — Одесса, 1944. Оригинал. Личный архив семьи Г. И. Потапенко.
9. Добролюбский К. П. Университет в период Великой Отесественной войны: Конспект лекции для сотрудников библиотеки ОГУ, Одесса, 21.10.86. — Личный архив В. С. Фельдмана.
10. Доводится до сведения всех студентов. // Одесская газета. — 1942. — 14 февраля (№ 40).
11. Зачетная книжка № 21 студента Одесского университета. Историко-филологического факультета Вейбер Риммы Яковлевны, 1942. Оригинал. Личный архив Р. Я. Вейберт.
12. Зачетная книжка № 150 студента Одесского университета. Факультет Точных наук, естественного отделения, Пашковской Натальи Михайловны, 1942. Оригинал. Личный архив Н. М. Пашковской.
13. Краткий отчет участника партизанского движения по г. Одессе Шелягина А. М., 1952. Рукопись. Оригинал. Личный архив семьи П. И. Егорова.
14. Кто принимается в Университет. Одесса, 5 августа 1942 г. № 88, ГАОО.
15. Кузнєцов В. О. Нарис історії біологічного факультету Одеського державного університету (Друга половина XIX – перша половина XX ст.) // Вісник ОДУ: 2000, т. 5, Вип. 1, Біологія.
16. Курсы по подготовке в высшие учебные заведения // Одесская газета. — 1942. — 14 февраля (№ 40), ГАОО.
17. Новые деканы // Одесса. — 1942. — 29 сентября (№ 135), ГАОО.
18. Материалы о жизни и деятельности Георгия Иосифовича Потапенко с 1889 года, 7 (20) января месяца. Мемуары. Рукопись. Оригинал. Личный архив семьи Г. И. Потапенко.
19. Одесса. Очерк истории города-героя. — Одесса: Одесское обл. изд-во, 1957.
20. Одесский Университет // Одесская газета. — 1942. — (№ 63), ГАОО.
21. Письмо Г. И. Потапенко (Руководству Советского правительства). Оригинал. Личный архив семьи Г. И. Потапенко.

22. Пребывание в Одессе г-на Гражданского Губернатора Транснистрии // Одесская газета. — 1941. — 10 декабря (№ 15), ГАОО.
23. Поздравление Г. И. Потапенко от товарищей по работе с успешной защитой докторской диссертации. — Оригинал. Личный архив семьи Г. И. Потапенко.
24. Савчук М.П. Лист до родини в Байрам-Алі, 24.05. 1944. Оригінал. Особистий архів родини М.П. Савчука.
25. Савчук М. П. Одеський Державний Університет в роки Великої Вітчизняної війни. Рукопис. — Особистий архів родини М. П. Савчука.
26. Савчук М. П. Одеський Державний Університет в роки Великої Вітчизняної війни: Скорочено / Академік Д. К. Третьяков та його наукова школа. — Одеса: Астропринт, 1999. — С. 68 – 77.
27. Смирнов В. А. Осужденный ректор Университета хирург П. Г. Часовников (1877 – 1955 гг.): По материалам СБУ // Одесский вестник. — 2000. — 22 января.
28. Студенческого общежития не будет // Одесса. — 1942. — 7 августа (№ 90), ГАОО.
29. Текст речи Губернатора Транснистрии г-на профессора Г. Алексяну на торжественном открытии Университета 7 декабря 1941 г. // Одесская газета. — 1941. — 13 декабря (№ 16), ГАОО.
30. Транснистрия навеки будет Румынской // Одесская газета. — 1941. — 23 ноября (№ 10), ГАОО.
31. Удостоверение № 9429/948-К Егорова Павла, 22.01.1943. Оригинал. Личный архив семьи П. И. Егорова.
32. Университет // Одесса. — 1942. — 26 августа (№ 106), ГАОО.
33. Часи та роки (Спогади ветеранів війни та праці Одеського університету). Вип. I Одеса: Астропринт, 1998.
34. Часи та роки (Спогади ветеранів війни та праці Одеського університету). Вип. II Одеса: Астропринт, 1999.
35. Экзамены новых студентов // Одесса. — 1942. — 5 августа (№ 88), ГАОО.
36. Adeverinta № 125 prezenta aliberat D-ra Pascovscaia Natalia. Оригінал. 1943. Особистий архів Н. М. Пашковская.
37. Bilet № 150 pentru a putea intra in cladirea Universitatu din Odessa Eliberat la 6 Februarie 1943. Оригінал. Особистий архів Н. М. Пашковської.
38. Diploma de Licenta in Stiintele Naturale. Odesa, anul 1944, luna Martie zina 15. Особистий архів І. Г. Гурського.

В. А. Кузнецов
Одесский национальный университет, кафедра ботаники,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ ОДЕССКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА В ПЕРИОД ВРЕМЕННОЙ ОКУПАЦИИ г. ОДЕССЫ (1941 – 1944 гг.)

Резюме

На основании изучения материалов оккупационной прессы, хранящейся в Государственном архиве Одесской области, свидетельств очевидцев и изучения личных архивов бывших студентов и преподавателей Одесского университета, рассмотрены особенности возникновения и функционирования университета в оккупированном румынскими войсками г. Одессе. Впервые публикуются документы, которые освещают работу Одесского университета в этот период.

Ключевые слова: история, биологический факультет, Одесский университет, оккупация.

V. A. Kuznetsov
Odessa National I. I. Mechnikov University, Department of Botany,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

THE FECULTY OF BIOLOGY OF THE ODESSA NATIONAL UNIVERSITY DURING THE PERIOD OF TEMPORARY OCCUPATION (1941 – 1944)

Summary

A lot of things concerning the functioning of the Odessa University have been examined on the basis of deep investigation of the witnesses evidence and personal archives of the former students and teachers of the Odessa University. The prewar materials of occupied Odessa region by Romanian troops are Kept in the Department of Archives in Odessa. These documents which are referring to the activity of the Odessa University are being published for the first time.

Key words: history, Biological Faculty, Odessa University, occupation.

Odessa National University Herald

•

Вестник Одесского национального университета

•

ВІСНИК
ОДЕСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ

Том 8 • Випуск 1 • 2003

Біологія

Технічний редактор *Г. О. Куклєва*

Здано у виробництво 12.12.2002. Підписано до друку 14.03.2003. Формат 70×108/16.
Папір офсетний. Гарнітура SchoolBook. Друк офсетний. Ум. друк. арк. 21,70.
Тираж 300 прим. Зам. № 924.

Надруковано у друкарні видавництва “Астропринт”
65026, м. Одеса, вул. Преображенська, 24.
Тел.: (0482) 26-98-82, 26-96-82, 37-14-25

www.astroprint.odessa.ua