

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 10. Випуск 5

Біологія

2005

Редакційна колегія журналу: В. А. Сминтина (*головний редактор*), О. В. Запорожченко (*заступник головного редактора*), В. О. Іваниця (*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. О. Філіпова, д-р біол. наук, професор; О. В. Слюсаренко, д-р біол. наук, професор; В. Д. Севастьянов, д-р біол. наук, професор; В. О. Іваниця, д-р біол. наук, професор; Л. М. Карпов, д-р біол. наук, професор; С. А. Петров, д-р біол. наук, професор; В. М. Тоцький, д-р біол. наук, професор (*науковий редактор*); *відповідальний секретар* — Г. В. Майкова, канд. біол. наук

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

Мова видання: українська, російська

Адреса редколегії:

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

Зміст

БІОТЕХНОЛОГІЯ

Г. А. Зеленіна

Мікророзмноження та особливості водного обміну регенерантів

Arnica foliosa Nutt. 7

Л. С. Шепель, М. Л. Махновська, С. О. Ігнатова

Біотехнологічні методи одержання стійких до борошнистої роси

 форм ярого ячменю 12

БІОХІМІЯ

О. А. Абрамова, О. В. Запорожченко

Перекисне окиснення ліпідів та система антиоксидантного захисту

 в еритроцитах щурів за умов гіпоксичної гіпоксії 21

А. М. Андрієвский, В. А. Кучеров, В. Н. Тоцкий, Е. В. Деркач

Онтогенетические особенности экспрессии карбоксизестераз у *Drosophila*

melanogaster 26

I. Л. Вовчук

Активність карбоксипептидази А в новоутвореннях яєчника 36

I. Л. Рижко

Вплив *in vitro* іонів важких металів на активність трипсиноподібного

ферменту личинок *Drosophila melanogaster* 43

О. В. Тихонова, О. О. Молодченкова, В. Г. Адамовська, С. А. Петров

Метаболізм вуглеводів у зерні кукурудзи при його проростанні

 за умов водяного дефіциту 51

С. С. Чернадчук, I. L. Вовчук

Активність металопротеїнази матриксу (МПМ-2) у тканинах

 новоутворень ендометрія та міометрія 58

БОТАНІКА, ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

В. А. Васін, В. О. Лях

Особливості жилкування листка мутанта, отриманого під дією

 етилметансульфонату на насіння соняшника 67

T. В. Васильєва

Інвазійно активні адVENTивні види рослин Південної Бессарабії 73

B. В. Немерцалов

Голонасінні у дендрофлорі м. Одеси 83

ГІДРОБІОЛОГІЯ І ЕКОЛОГІЯ

В. В. Заморов, Ю. Н. Олейник, М. М. Джуртубаев

Естественное вселение бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* (Pallas)

 в Придунайские озера 93

В. П. Стойловський, О. М. Попова

Результати інвентаризації природно-заповідного фонду Одеської області.

 І. Заказники місцевого значення 101

ГЕНЕТИКА І ЦИТОЛОГІЯ	
Н. Е. Волкова, Л. И. Воробьёва	
Влияние генных мутаций хромосом 1 и 2 на половое поведение	
<i>Drosophila melanogaster</i>	115
А. Ю. Губський, О. В. Жук	
Полиморфизм структурных элементов сигнальных последовательностей	
рекомбинации генов иммуноглобулинов и Т-клеточных рецепторов	
человека	126
В. А. Тоціков, Л. Ф. Дьяченко, В. М. Тоцький, Л. Т. Бабаянц	
Експресивність ген-enzимних систем	
у споріднених ліній озимої м'якої пшеници, стійких до мікапатогенів	132
Н. Д. Хаустова, С. В. Белоконь, В. Н. Тоцький, И. В. Сургучова	
Ефективность размножения и компоненты приспособленности	
мутантов <i>vg</i> и <i>cn vg Drosophila melanogaster</i>	145
ЗООЛОГІЯ	
Т. Ф. Крутоголова, О. С. Бондаренко	
Колемболи (<i>Collembola</i>) в мікростаціях пляжу "Дельфін"	155
МІКРОБІОЛОГІЯ І ВІРУСОЛОГІЯ	
Т. В. Васильєва, В. О. Іваниця, Н. Ю. Васильєва, Н. С. Бобрешова	
Біологічні властивості тіонових бактерій Куяльницького лиману	167
ТЕОРЕТИЧНА БІОЛОГІЯ	
А. В. Колесников, Л. М. Карпов	
Методи декомпозиції для аналізу динамічних явищ у моделях біосистем	179
ІСТОРІЯ НАУКИ ТА УНІВЕРСИТЕТУ	
С. Г. Коваленко, О. Ю. Бондаренко	
Скарби гербарію одеського національного університету ім. І. І. Мечникова.	
Травник XVIII сторіччя	191
РЕЦЕНЗІЙ	
Біоенергетичні основи стійкості озимої пшеници до посухи,	
A. K. Ляшок	201
ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ	203

БІОТЕХНОЛОГІЯ



УДК 581.143.6: 581.116:633.88

Г. А. Зеленіна, мол. наук. співроб.

Південний біотехнологічний центр у рослинництві УААН,
Овідіопольська дорога, 3, м. Одеса, 65036, Україна,

МІКРОРОЗМНОЖЕННЯ ТА ОСОБЛИВОСТІ ВОДНОГО ОБМІНУ РЕГЕНЕРАНТІВ *ARNICA FOLIOSA* NUTT.

Вивчено стан водного обміну регенерантів цінної лікарської рослини *Arnica foliosa* Nutt. (арніка листяна) на послідовних етапах культивування: мікророзмноженні, акліматизації та в польових умовах. Встановлено, що стресові умови культивування *in vitro* значно впливають на вміст води, інтенсивність транспірації та ступінь розкриття продихів рослин-регенерантів, які поступово нормалізуються в процесі акліматизації в теплиці та в польових умовах.

Ключові слова: мікророзмноження, регенеранти, водний обмін, продихи, акліматизація.

Arnica foliosa Nutt. — цінна лікарська рослина родини Айстрових, перспективна для введення в промислову культуру на півдні України [1]. Для створення промислових плантацій виду доцільно збільшити коефіцієнт розмноження за допомогою методів *in vitro*. Незважаючи на сучасні досягнення в галузі біотехнології рослин, залишається багато невирішених питань, що стосуються акліматизації рослин-регенерантів до умов *in vivo*, за якими гине від 50 до 100% регенерантів [2–4]. Тому, проблема підвищення життєздатності регенерантів залишається актуальною. Раніше [5] нами запропонована методика масового отримання та вкорінювання пагонів *Arnica foliosa* в культурі *in vitro*. Враховуючи особливості рослин-регенерантів [3], для оцінки їх життєздатності в даній роботі використовували біометричні та фізіологічні показники, які є найбільш чутливими до впливу стресових умов в культурі *in vitro*, — такі як інтенсивність транспірації, вміст води в тканинах, кількість та розміри продихів регенерантів на трьох послідовних етапах культивування: I — розмноження та вкорінювання *in vitro*; II — акліматизація рослин-регенерантів в умовах теплиці; III — подальша акліматизація в польових умовах.

Матеріали і методи

Культивування *in vitro* провадили на агаризованих живильних середовищах за прописом Мурасіге і Скуга [6]. Експланти — вузлові сегменти стебла — культивували на середовищах з доданням 6-бензиламінопурину (6-БАП) та індолілоцтової кислоти (ІОК). Через 1 місяць від кожного експланту отримували пучки пагонів. Окремі пагони висаджували на безгормональне середовище з половинною концен-

нтрацією мінеральних елементів та доданням 1 г/л активованого вугілля, де вони через 3–4 тижні вкорінювались. Отримані рослини-регенеранти переносили у торфо-перлітний субстрат (1:1) і дорощували в умовах підвищеної вологості повітря у теплиці протягом одного місяця. Після цього рослини переносили в польові умови, де вони нормальню розвивалися та вже на другий рік цвіли. Інтенсивність транспірації визначали в зрізаних листках за методикою Іванова [7], ступінь розкриття продихів на фіксованому епідермісі — методом Ллойда [7], вміст води — ваговим методом [7]. Отримані числові дані обробляли статистичними методами для малих вибірок [8].

Результати дослідження та їх аналіз

Стресові умови, які складаються при культивуванні рослин *in vitro*, — такі як: водний потенціал поживних середовищ в десять разів нижчий ґрунтового, високі концентрації агару, підвищена вологість, вплив регуляторів росту — створюють особливий водний режим регенерантів, зменшуючи ефективність клонального розмноження [3, 4]. Відсутність рушійної сили транспірації — градієнта водного потенціалу між рослиною і повітрям — викликає постійно відкритий стан продихів, а при тривалому культивуванні *in vitro* призводить до втрати продихами здібності закриватися [9]. Особливий стан водного обміну регенерантів *Arnica foliosa* та його нормалізація в процесі акліматизації підтверджені в наших дослідженнях. Результати наведені в табл. 1 і на рис. 1.

Таблиця 1
Особливості водного обміну регенерантів *Arnica foliosa* Nutt.
на послідовних етапах культивування

Етапи мікроклонального розмноження	Кількість продихів на одиницю площини листка, шт./см ²	Інтенсивність транспірації, мг води/см ² х год.	Вміст води в тканинах листка, % від сирої маси
Мікроклонування <i>in vitro</i>	4025 ± 87	0 360 ± 14*	98 ± 5
Акліматизація в умовах теплиці	2225 ± 48	21,0 ± 1,1	91 ± 4
Акліматизація в польових умовах	4800 ± 115	4,6 ± 0,2	75,5 ± 4,0

* — інтенсивність транспірації регенерантів через 5 хвилин після вилучення з культуральної колби

Нами показано, що ступінь розкриття продихів максимальна на етапі культивування *in vitro*. Кількість продихів на одиницю площини листка за період акліматизації в теплиці зменшується майже вдвічі, далі цей показник знову збільшується, перевищуючи рівень *in vitro*.

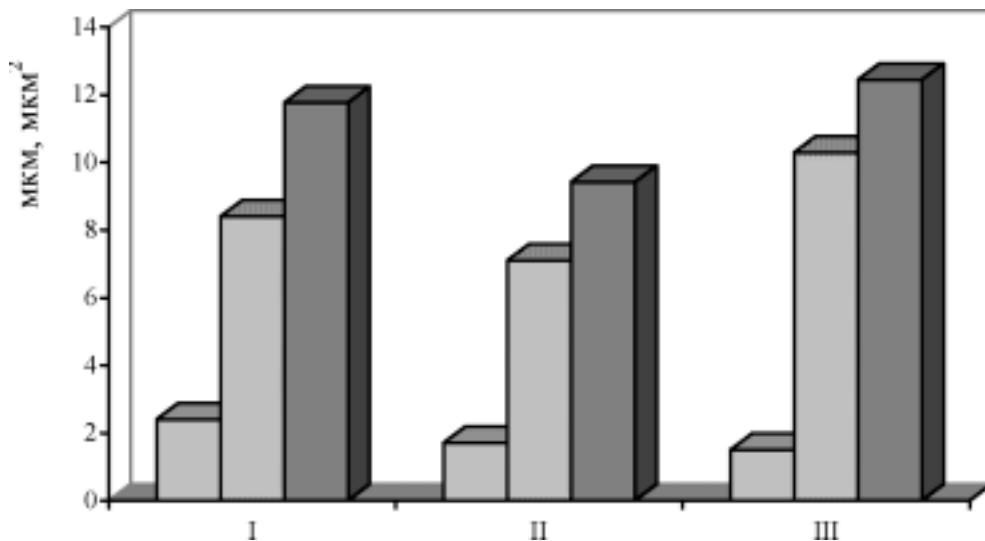


Рис. 1. Розміри продихових отворів регенерантів *Arnica foliosa* на послідовних етапах культивування:

I — мікророзмноження *in vitro*; II — акліматизація в умовах теплиці;
III — акліматизація в польових умовах;

■ — ширина; □ — довжина; ■ — площа

Можна припустити, що таке зменшення кількості продихів на одиницю площині листка пов'язано зі значним ростом останнього на II етапі, а також із впливом накопичених в тканинах цитокінінів, які гальмують утворення продихів [10]. Аналогічна закономірність простежується і для загальної площині продихових отворів, але на I та III етапах цей показник залишається на рівні, характерному для цього виду рослин.

З'ясувалося, що при вирощуванні в умовах *in vitro* продихи регенерантів постійно відкриті, транспірація відсутня, а при різкому переміщенні рослин-регенерантів до природних умов інтенсивність транспірації сягає дуже високого рівня (табл. 1), що може привести, згідно з даними літератури [4], іноді до 100 % втрати розсади. Тому проміжний етап культивування — акліматизація при підвищенні вологості повітря в теплиці, де інтенсивність транспірації поступово знижується, є необхідним. Після акліматизації регенеранти пересаджують в польові умови, де інтенсивність транспірації остаточно нормалізується, знижуючись майже на два порядки. Поступово зменшується також і вміст води в тканинах рослин-регенерантів. На I етапі кількість води дуже висока, що узгоджується з даними літератури [3, 4]. На II та III етапах цей показник поступово нормалізується.

Таким чином, нами доведена можливість відновлення нормального водного обміну та функціонування продихового апарату рослин-регенерантів при поступовому знятті водного стресу на II етапі розмноження *in vitro* за акліматизації в теплиці.

Висновки

1. Водний обмін рослин-регенерантів *Arnica foliosa* за їх вирощування *in vitro* і *in vivo* істотно змінюється. Регенерантам *in vitro* властиві постійно відкритий стан продихів, відсутність транспірації та значний вміст води в тканинах.
2. Зміна умов вирощування регенерантів на умови *in vivo* збільшує інтенсивність транспірації майже на два порядки, що викликає необхідність акліматизації рослин у теплиці в умовах підвищеної вологості протягом одного місяця. При цьому водний обмін рослин поступово нормалізується.

Література

1. Геринг Х. Преодоление витрификации и улучшение акклиматизации растений при клonalном микроразмножении // Биол. культивир. клеток и биотехнол. раст. — М.: Наука. — 1991. — С. 197–200.
2. Гиголашвили Т. С., Реццкий В. Г., Родъкин О. И. Особенности водообмена ассимиляционной ткани Solanum в условиях *in vitro* и *in vivo* // Физиол. и биохим. культ. раст. — 1997. — Т. 29, № 6. — С. 461–467.
3. Зеленіна Г. А. Мікроклональне розмноження та фізіологічні особливості *Arnica foliosa* Nutt. // Вісник Одеського Національного Університету. — 2004. — Т. 9, Вип. 2. — С. 63–66.
4. Лакин Г. Ф. Биометрия. — М.: Вища школа, 1990. — 352 с.
5. Koshuhova S., Zoglauer K., Goring H. Loss of function of guard cell of in-vitro-cultured plants and its restitution: avoidans of vitrification and improvement of acclimatization // Colloquia Pflanzenphysiologie "Stomata-89", Humboldt-Universität zu Berlin. — 1989. — № 13. — Р. 38–46.
6. Собко В. Г., Дубенец Т. Г. К вопросу об интродукции видов растений рода Арника // II конф. по мед. бот.: Тез. докл. — Киев, 1988. — С. 170–171.
7. Бленда В. П., Бленда А. В., Созинов О. О., Іваненко І. В. Особливості реадаптації підщеп кісточкових культур, отриманих мікроклональним розмноженням, до умов відкритого ґрунту // Физиол. и биохим. культ. раст. — 1998. — Т. 30, № 3. — С. 225–229.
8. Ziv M., Schwartz A., Fleminger D. Malfunctioning stomata in vitreous leaves of carnation plants propagated in vitro: Implication for hardening // Plant Sci. — 1987. — 52. — Р. 127–134.
9. Практикум по физиологии растений / Под общ. ред. Третьякова Н. Н. — М.: Агропромиздат. — 1990. — 271 с.
10. Murashige T., Skoog F. A revised medium for a rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultured // Physiol. Plant. — 1962. — № 3, ed. 15. — Р. 473–497.

Г. А. Зеленина

Южный биотехнологический центр в растениеводстве УААН,
Овидиопольская дорога, 3, г. Одесса, 65036, Украина,

МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ И ОСОБЕННОСТИ ВОДНОГО ОБМЕНА РЕГЕНЕРАНТОВ *ARNICA FOLIOSA* NUTT.

Резюме

Проведено изучение водного обмена регенерантов ценного лекарственного растения *Arnica foliosa* Nutt. (арника облиственная). на последовательных этапах:

*Водний обмін регенерантів *Arnica foliosa* Nutt.*

микроразмножения, акклиматизации и в полевых условиях. Установлено, что стресовые условия культивирования *in vitro* значительно влияют на содержание воды, интенсивность транспирации и степень открытия устьиц растений-регенерантов, которые постепенно нормализуются в процессе акклиматизации в теплице и в полевых условиях.

Ключевые слова: микроразмножение, регенеранты, водный обмен, устьица, акклиматизация.

G. A. Zelenina

South Ukrainian Biotechnology Center
Ovidiopolskaya doroga 3, Odessa, 65036, Ukraine

MICROPROPAGATION AND THE FEATURES OF WATER EXCHANGE OF *ARNICA FOLIOSA* NUTT.

Summary

Water metabolism investigation of the regenerants of the valuable medicinal plant *Arnica foliosa* Nutt. has been conducted. It is established the stressful conditions *in vitro* considerably influence on water consistent, rate evaporation and stomata parameters of multiple plantlets, which are normalized after further acclimatization in greenhouse and field.

Keywords: micropagation, plantlets, water exchange, stomata, acclimatization.

УДК 576.581.1-633.16

**Л. С. Шепель, асп., М. Л. Махновська, канд. біол. наук,
С. О. Ігнатова, д-р біол. наук, зав. лаб. культури тканин**

Південний біотехнологічний центр у рослинництві УААН,
Лабораторія культури тканин
Овідіопольська дорога, 3, Одеса, 65036, Україна,
e-mail: sh_lyudmila@bigmir.net

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ МЕТОДИ ОДЕРЖАННЯ СТІЙКИХ ДО БОРОШНИСТОЇ РОСИ ФОРМ ЯРОГО ЯЧМЕНЮ

Наведено результати досліджень з отриманням стійких до борошнистої роси регенерантів із ізольованих незрілих зародків віддалених гібридів *Hordeum vulgare* ($2n = 14$) \times *Hordeum bulbosum* ($2n = 28$) в умовах *in vitro*. Показано, що ефективність віддаленої гібридизації залежить від генотипів культурного ячменю. В результаті одержано амфіплоїдні та гаплоїдні рослини-регенеранти. З використанням методу культури піляків із гібридів F_2 Гетьман \times Astoria, Гетьман \times Madonna отримані лінії, які за попередньою оцінкою є стійкими до борошнистої роси.

Ключові слова: *Hordeum vulgare*, *Hordeum bulbosum*, віддалена гібридизація, гібрид, культура піляків.

Інтенсивна розробка та вдосконалення методів культивування клітин, тканин та окремих органів *in vitro* значно вплинули на технологію виведення нових сортів основних хлібних злаків. Так, широкі перспективи для створення вихідного матеріалу, збагаченого цінними ознаками, відкрив метод ембріокультури — складової частини віддаленої гібридизації, яка є новим джерелом інтрогресії генів стійкості до біотичних та абіотичних факторів від споріднених диких видів [1–3]. Про перспективність цього напряму свідчать результати праць щодо віддаленої гібридизації озимої пшениці з *Aegilops*. В Селекційно-генетичному інституті створено 33 лінії з високою специфічною та груповою стійкістю до хвороб [4, 5]. З використанням дикорослої форми *Hordeum bulbosum*, генофонд якої містить гени високої стійкості до морозу та основних хвороб, створені гібриди та інтрогресивні форми ячменю зі стійкістю до борошнистої роси, вірусу жовтої мозаїки та листової іржі [6–8].

Широко використовується в селекційній практиці метод культури піляків, який дозволяє скоротити термін виведення сорту в 1,5–2 рази. Дослідженнями попередників [9–11] засвідчена перспективність застосування цього методу в програмах одержання стійких до хвороб ліній і гібридів ячменю і пшениці. Все це свідчить про доцільність розробки технології одержання стійкого до хвороб вихідного матеріалу ячменю шляхом віддаленої гібридизації в поєднанні з методом ембріокультури та методом культивування ізольованих піляків *in vitro*.

Виходячи з цього, метою даної роботи було дослідження можливості одержання гібридів *Hordeum vulgare* ($2n = 14$) \times *Hordeum bulbosum* ($2n = 28$), а також ліній ярого ячменю з підвищеною стійкістю до борошнистої роси з використанням методів культури клітин та тканин *in vitro*.

Матеріали та методи

Для виконання досліджень були залучені два гібриди ярого ячменю другого покоління, створені за участю сорту Гетьман з комплексною стійкістю до листостеблових хвороб і стійких до борошнистої роси сортів іноземної селекції Astoria та Madonna, які були надані відділом селекції ячменю Селекційно-генетичного інституту. Вказані гібриди (Гетьман \times Astoria і Гетьман \times Madonna) висівалися в полі в три строки (16.04; 21.04; 26.04) і використовувались в якості материнських форм у віддалених схрещуваннях з озимою формою *Hordeum bulbosum* ($2n = 28$) із колекції лабораторії культури тканин Південного біотехнологічного центру у рослинництві та в якості доно-рних рослин для культури піляків. Запилювання квіток ячменю пилком *H. bulbosum* здійснювали через 1–2 дні після кастрації. Гібридні рослини одержували з використанням ембріокультури. Для цього на 14–16 день після запилення незрілі зародки стерильно вилучали і культивували на живильному середовищі MS, збагаченому глютаміном (400 мг/л) та 2,4-Д (0,1 мг/л), в термостаті до появи колеоптиля. Далі паростки виставляли на світло (1,5 тис. люкс/м²) до формування добре розвинутої кореневої системи. Для стимуляції різогенезу паростки культивували в рідкому середовищі MS з половинним вмістом макро- і мікросолей з додаванням гормонів (ІОК — 0,4 мг/л і кінетину — 0,2 мг/л). Кількість хромосом у клітинах молодих корінців регенерантів підраховували за методикою Паушевої [12]. Перед висадженням у ґрунт паростки колхіцинували (0,15% розчин колхіцину в 4% диметилсульфоксиді) методом вакуум-інфільтрації [13]. Для одержання гомозиготних ліній використовували метод культивування ізольованих піляків *in vitro*. Зрізані колосся протягом п'яти діб витримували в розчині 2,4-Д (2,5 мг/л). Ізольовані піляки імплантували на живильне середовище Lorz [14] з додатком мелібози (2 г/л) і гідроксинікотинової кислоти (1 мг/л).

Результати досліджень та їх аналіз

Фенологічні спостереження показали, що цвітіння рослин тетраплоїдної форми *H. bulbosum* ($2n = 28$) співпадало з цвітінням рослин ярого ячменю гібридів Гетьман \times Astoria, Гетьман \times Madonna другого та третього строків посіву (21.04; 26.04) і тривало на протязі восьми днів. За результатами проведених в цей період схрещувань гібридів Гетьман \times Astoria, Гетьман \times Madonna з *H. bulbosum* ($2n = 28$) встановлено, що обидва гібриди здатні до схрещувань з дикою формою, але різняться за кількістю зерен, що утворювались, та кількістю життєздатних зародків. Кращим за цими показниками був гібрид Геть-

ман x Astoria. Встановлено, що далеко не всі вилучені і висаджені на живильне середовище гібридні незрілі зародки призводили до регенерації рослин. Більшість зародків була нежиттєздатною і гинула на різних етапах розвитку. При цьому відсоток гібридних рослин-регенерантів, отриманих в комбінації (Гетьман x Astoria) x *H. bulbosum*, був значно вищим (табл. 1).

Таблиця 1

Одержання гібридів та гаплоїдів в результаті гібридизації *Hordeum vulgare* (2n = 14) x *Hordeum bulbosum* (2n = 28)

Гібридна комбінація	Запилено квіток, шт.	Утворилось зерен, шт.	Схрещуваність %	Регенеранти		Гаплоїди	
				Кількість, шт.	%	Кількість, шт.	%
Гетьман x Astoria x <i>H. bulbosum</i>	160	36	22,5 ± 3,3	16	44,4	2	12,5
Гетьман x Madonna x <i>H. bulbosum</i>	140	20	15 ± 3,01	4	20,0	0	0

Слід зазначити, що більшість регенерантів часто не утворювали коренів. Подолати цю проблему вдалося шляхом подальшого культивування паростків у рідкому живильному середовищі MS з половинним вмістом солей та додаванням гормонів (ІОК — 0,4 мг/л і кінетину — 0,2 мг/л). Всього від віддалених схрещувань одержали 20 рослин-регенерантів. За підрахунком кількості хромосом у меристемних клітинах молодих корінців 2 рослини були гаплоїдними (7 хромосом), у інших число хромосом становило 7 < 2n < 28, серед яких 9 мали по 21 хромосомі. Утворення гаплоїдів свідчить про здатність хромосом *H. bulbosum* (2n = 28) до повної елімінації в гібридному зародку.

За фенологією у гібридних рослин спостерігалося неповне домінування ознак батьківської форми *H. bulbosum*. Більшість рослин були ярими, високорослими, мали високу кущистість, вузьку листову пластинку та відкритий тип цвітіння. Озимих форм виявилося дві, низькорослих — 4. Колос у всіх гібридних рослин був шестирядний. Рослини були стерильними і потребували бекросування. Дві гаплоїдні рослини, отримані в комбінації (Гетьман x Astoria) x *H. bulbosum*, після колхіцинування дали диплоїдних нащадків, які морфологічно були схожі на середньорослий культурний ячмінь з підвищеною кущистістю, великим щільним колосом і дуже великим зерном. За попередньою оцінкою в штучних умовах всі рослини, отримані від віддалених схрещувань, не вражувались борошнистою росою. Рівень стійкості буде визначатись в польових умовах СГІ.

Отримані результати свідчать, що в лабораторній колекції культурних клонів *H. bulbosum* (2n = 28), яких можна вважати перспективними для віддаленої гібридизації ячменю як засобу одержання гібридних рослин з новими якостями і, частково, гаплоїдів. Схрещуваність та здатність гібридів до формування життєздатних зародків суттєво залежать від генотипу ячменю.

Біотехнологічні методи одержання стійких форм ячменю

Гібриди Гетьман x Astoria і Гетьман x Madonna залучалися також для прискореного одержання стійких до борошнистої роси ліній шляхом гаплоїдизації. Гаплойди отримували за допомогою методу культури ізольованих піляків. Показано (табл. 2), що живильне середовище Lorz та дібрани нами умови обробки зрізаного колосся і культивування ізольованих піляків дозволяють реалізувати високу здатність гібридів до утворення ембріогенних піляків (42,8 і 55% індукції ембріоїдів). Проте відсоток регенерації зелених рослин був, як і у інших дослідників, низьким [15, 16].

Таблиця 2

Одержання зелених регенерантів від гібридів яного ячменю шляхом культури піляків

Гіybrid	Число висаджених піляків, шт.	Ембріогенні піляки		Зелені регенеранти	
		Кількість, шт.	%	Кількість, шт.	%
Гетьман x Astoria	1440	792	$55,0 \pm 1,31$	20	$2,5 \pm 3,49$
Гетьман x Madonna	1680	720	$42,8 \pm 1,2$	4	$0,6 \pm 3,86$

Прямого зв'язку між калусогенезом і регенерацією не виявлено. У випадку гібриду Гетьман x Astoria виникала значно більша кількість зелених рослин-регенерантів. Серед отриманих регенерантів за вирощування в штучних умовах частина була зі спонтанно подвоєною кількістю хромосом, що відповідає результатам досліджень інших дослідників, які працювали з культурою піляків не тільки ячменю, а інших культур [14, 15, 17]. Відсоток спонтанного подвоєння кількості хромосом був високим, однак неоднаковим у різних генотипів. Від гібриду Гетьман x Astoria вдалося одержати 14, а від гібриду Гетьман x Madonna лише дві лінії подвійних гаплойдів (табл. 3).

Таблиця 3

Частота спонтанної диплоїдизації в культурі піляків гібридів яного ячменю

Гіybrid	Число зелених регенерантів	Подвоєні гаплойди	
		Кількість, шт.	%
Гетьман x Astoria	20	14	70
Гетьман x Madonna	4	2	50

Всі лінії (2 — отримані шляхом віддаленої гібридизації і 16 — методом культури піляків) передані до відділу фітопатології СГІ і висіяні в полі для оцінки рівня стійкості до борошнистої роси.

Аналізуючи наведені дані та публікації інших дослідників, слід виходити з того, що всі запропоновані технології одержання гаплойдів

шляхом культури піляків не дозволяють подолати генотипову залежність гаплопродукційної здатності у ячменю, і, на думку Zheng [17] стабільна культуральна система для всіх генотипів залишається ілюзією. Уникнути цього можна шляхом добору джерел гаплопродукційного процесу і включення їх до програм одержання гомозиготних ліній. Підвищення стійкості до борошнистої роси у вихідних форм для селекційних програм можливе завдяки використанню віддаленої гібридизації та подальшим отриманням регенерантів через ембріокультуру. Для скорочення терміну одержання стійких ліній із гібридів доцільним є застосування методу культури піляків.

Висновки

1. Дібрана стійка до борошнистої роси дикоросла форма *Hordeum bulbosum* ($2n = 28$) для віддалених схрещувань з ярим ячменем *Hordeum vulgare* ($2n = 14$). Одержано 18 віддалених гібридів і 2 по-двійних гаплоїди.
2. Ефективність віддаленої гібридизації *Hordeum vulgare* x *Hordeum bulbosum* залежить від генотипу культурного ячменю.
3. Із незрілих зародків зерна гібриду (Гетьман x Astoria) x *Hordeum bulbosum* ($2n = 28$) отримано амфігаплоїдних ($7 < 2n < 28$) та гаплоїдних регенерантів. У частини гаплоїдних рослин шляхом колхіцинування кількість наборів хромосом було подвоєно ($2n = 14$).
4. Від гібридів, створених гібридизацією стійких до борошнистої роси сортів, одержано 16 ліній ярого ячменю з ознакою високої стійкості до хвороби, що можна використати у селекційних програмах по створенню нових сортів ячменю.

Література

1. Першина Л. А., Шумный В. К., Белова Л. И. Межвидовая и межродовая гибридизация дикорастущего ячменя *Hordeum geniculatum* // Цитология и генетика. — 1985. — Т. 9, № 3. — С. 392–433.
2. Банникова В. П. Межвидовая несовместимость у растений. — Киев: Наукова думка, 1986. — С. 132–140.
3. Chen J., Xu N. Studies on the utilization potentiality of the nucleo-cytoplasmic hybrids in wheat // Nat. Sci. — 2000. — Vol. 5, № 1. — P. 114–118.
4. Авсенин В. И. Моцный И. И., Рибалка А. И., Файт В. И. Гибриды *Aegilops cylindrica* Host с *Triticum durum* Desf и *T. aestivum* L. // Цитология и генетика. — 2003. — Т. 37, № 1. — С. 11–17.
5. Бабаянц Л. Т., Рибалка О. И., Аксельруд Д. В. Нове джерело стійкості пшениці до основних хвороб // Реалізація потенційних можливостей сортів та гібридів Селекційно-генетичного інституту в умовах України: Зб. наук. праць. — Одеса, 1996. — С. 111–116.
6. Балканджиева Ю. Цитоморфологическая характеристика гибридов *Hordeum bulbosum* (4x) и *Hordeum vulgare* (4x) // Генетика и селекция — 1987. — Т. 20, № 3. — С. 211–216.
7. Walter U., Proesler G., Zigel S. *Hordeum bulbosum* initial material with new disease resistance genes in barley breeding // Barley genetics. — 2000. — Vol. 8. — P. 207–209.
8. Pickering R. P., Jonston P. A., Crome M. G. *Hordeum bulbosum* a new source of disease and pest resistance genes for use in barley breeding programs // Barley Genet. News. — 2000. — Vol. 30. — P. 1–4.
9. Молчанова Л. М., Смолин В. П. Оценка дигаплоидных линий ярового ячменя по продуктивности и устойчивости к болезням // Совершенствование селекционно-генетических

Біотехнологічні методи одержання стійких форм ячменю

- и семеноводческих процессов зерновых и зернобобовых культур в нечерноземье: Сб. науч. трудов. — Москва, 1988. — С. 35–43.
10. Friendt W., Yorts R., Kaiser D., Foroughi-Wehr K. Present state and prospects in breeding for resistance or immunity to barley yellow mosaic virus // Buelletin OEPP. — 1989. — P. 563–571.
11. Аナンьев Б. Б. Культура микроспор и гаплоидная биотехнология пшеницы // Биотехнология теория и практика. — 2001. — № 4. — С. 34–45.
12. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. — М.: Агропромиздат, 1988. — 271 с.
13. Лукьянюк С. Ф., Игнатова С. А. Получение гаплоидов при скрещивании *Hordeum vulgare* с *Hordeum bulbosum* // Сельскохозяйственная биотехнология. — 1983. — № 5. — С. 8–15.
14. Jahne A., Lorz H. Cereal microspore culture // Plant Sci. — 1995. — Vol. 109. — P. 1–12.
15. Белинская Е. В. Влияние гаметного отбора в культуре пыльников *in vitro* на изменчивость признаков продуктивности удвоенных гаплоидов ячменя // Международный симпозиум: Молекуляные механизмы генетических процессов и биотехнология. Москва 18–21 ноября 2001. — С. 121.
16. Гурецкая В. С., Шишлов М. П., Гордей И. А. Генотипическая специфичность морфогенеза и эффективность использования фитогормонов в культуре пыльников ячменя *in vitro* // Международный симпозиум: Молекуляные механизмы генетических процессов и биотехнология. Москва 18–21 ноября 2001. — С. 128.
17. Ming Y. Z., Zeng H. Microspore culture in wheat *Triticum aestivum* doubled haploid production via induced embryogenesis // Plant Cell, Tissue Organe culture. — 2003. — Vol. 73. — P. 213–230.

Л. С. Шепель, М. Л. Махновская, С. А. Игнатова,

Южный биотехнологический центр в растениеводстве УААН,
Лаборатория культуры тканей
Овидиопольская дорога, 3, Одесса, 65036, Украина, e-mail:
sh_lyudmila@bigmir.net

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ МЕТОДИ ПОЛУЧЕННЯ УСТОЙЧИВЫХ К МУЧНИСТОЙ РОСЕ ФОРМ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ

Резюме

Представлены результаты исследований по получению устойчивых к мучнистой росе регенерантов из изолированных незрелых зародышей отдаленных гибридов *Hordeum vulgare* ($2n = 14$) x *Hordeum bulbosum* ($2n = 28$) в условиях *in vitro*. Показано, что эффективность отдаленной гибридизации зависит от генотипов культурного ячменя. В результате получены амфиплоидные и гаплоидные растения-регенеранты. С использованием метода культуры пыльников из гибридов F_2 Гетьман x Astoria, Гетьман x Madonna получены линии, которые по предварительной оценке были устойчивыми к мучнистой росе.

Ключевые слова: *Hordeum vulgare*, *Hordeum bulbosum* отдаленная гибридизация, гибрид, культура пыльников.

L. S. Shepel, M. L. Machnovskaya, S. A. Ignatova

South Plant Biotechnology Center,
Plant Tissue Laboratory,
Ovidiopolskaya St., 3, Odessa, 65036, Ukraine, e-mail: sh_lyudmila@bigmir.net

**THE BIOTECHNOLOGICAL METHODS OF OBTAINING SPRING
BARLEY THE FORMS RESISTANT TO POWDERY MEALYDEW**

Summary

The results of obtaining the regenerants resistant to powdery mealydew from the isolated unripe embryo of distant hybrids *Hordeum vulgare* ($2n = 14$) x *Hordeum bulbosum* ($2n = 28$) in *in vitro* conditions are presented. It is shown, that efficiency of distant hybridization depends on the genotypes of cultural barley. The amphiploid and haploid regenerants were received as the result of it. By using anther culture method the lines resistant to powdery mealydew were received by preliminary estimation from F_2 Hetman x Astoria, Hetman x Madonna hybrids.

Keywords: *Hordeum vulgare*, *Hordeum bulbosum*, wild hybridization, a hybrid, anther culture.

БІОХІМІЯ



УДК 577.12:612.22

О. А. Абрамова, асп., О. В. Запорожченко, канд. біол. наук, доц.Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна. Тел: (0482) 68-78-75

ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ЕРИТРОЦИТАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГІПОКСИЧНОЇ ГІПОКСІЇ

Досліджено вплив гіпоксичної гіпоксії на вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і активність супероксиддисмутази, каталази, церулоплазміну та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в крові та органах щурів. Встановлено, що при гіпоксії відбувається активація ПОЛ в плазмі крові, еритроцитах, головному мозку, серці та печінці щурів. В еритроцитах щурів спостерігається зниження активності супероксиддисмутази та посилення активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.

Ключові слова: гіпоксія, перекисне окислення ліпідів.

Гіпоксія є патофізіологічною основою для розвитку багатьох патологічних станів і захворювань людини [1–3]. Відомо, що за умов гіпоксії спостерігається активація процесів вільнорадикального та перекисного окиснення [4]. Вільні радикали, що при цьому утворюються, можуть пошкоджувати клітинні мембрани [5]. Основними ферментами антиоксидантного захисту є супероксиддисмутаза (СОД), каталаза та церулоплазмін, які знешкоджують супероксидні радикали [6]. Крім цього, церулоплазмін сприяє окисненню іонів заліза без утворення супероксидних радикалів та зв'язує іони міді, запобігаючи ушкодженню клітини за оксидантної дії [7]. У зв'язку з цим метою даної роботи було дослідити рівень ПОЛ в крові та органах щурів, а також стан ключових ферментів антиоксидантної системи в еритроцитах щурів за умов гіпоксичної гіпоксії.

Матеріали та методи

Досліди було проведено на 15 щурах лінії Вістар, що утримувалися в стандартних умовах віварію. Для створення умов гіпоксичної гіпоксії щурів на 1 годину поміщали в камеру, звідки було викачане повітря до рівня парціального тиску 217 мм рт. ст. Контрольну групу складали 10 інтактних тварин.

Матеріалом досліджень були плазма крові, гемолізат еритроцитів та гомогенати головного мозку, серця та печінки щурів. Кров щурів, стабілізований цитратом натрію у співвідношенні 1:9, центрифугували 15 хвилин за умов 1200 g та відбирали плазму. Осад еритроцитів тричі промивали фізіологічним розчином (рН 7,4) і кожен раз центрифугували 10 хвилин при 1200 g. Для отримання гемолізату еритроцити обробляли 0,001 M розчином гістидину (рН 7,4) протягом однієї години.

Інтенсивність процесів ПОЛ визначали за вмістом первинних та вторинних продуктів цього окиснення — дієнових кон'югатів (ДК) та малонового діальдегіду (МДА) [8, 9]. Активність каталази визначали за кольоровою реакцією з молібдатом, використовуючи за субстрат H_2O_2 [10], активність СОД — за інгібуванням відновлення нітросинього тетразолію [11], оксидазну активність церулоплазміну — за реакцією з р-фенілендіаміном [12], активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г6ФДГ) — за утворенням НАДФН [13]. Білок визначали за методом Лоурі [14]. Результати оброблено статистично з використанням t-критерію Стьюдента [15].

Результати дослідження

Результати визначення вмісту продуктів ПОЛ в крові та органах щурів наведено в таблиці 1, з якої видно, що рівень первинних молекулярних продуктів ПОЛ — дієнових кон'югатів — за умов гіпоксії зростав в усіх досліджуваних тканинах: на 124,4% — в плазмі крові, на 70,7% — в еритроцитах, на 76% — в головному мозку, на 104,9% — в серцевому м'язі та на 44% — в печінці. Вміст МДА, що є вторинним молекулярним продуктом ПОЛ, зростав на 366% в плазмі крові, на 98,4% — в серцевому м'язі, на 231% — в печінці. Особливо значним (більш ніж у 8 разів) його збільшення було в тканинах головного мозку, тоді як вміст МДА в еритроцитах залишився практично незмінним. Таким чином, після знаходження щурів протягом однієї години в умовах гіпоксичної гіпоксії відбувається активація процесів ПОЛ в плазмі крові, еритроцитах, головному мозку, серцевому м'язі та печінці щурів.

Таблиця 1
Вміст ДК та МДА (нмоль/мг білка) в плазмі крові, еритроцитах та органах щурів за гіпоксичної гіпоксії

Тканини	Показник	Контроль	Гіпоксія
Плазма крові	ДК	$8,57 \pm 0,59$	$19,23 \pm 2,83^{***}$
	МДА	$1,97 \pm 0,31$	$9,18 \pm 1,57^{***}$
Гемолізат еритроцитів	ДК	$16,61 \pm 3,13$	$28,36 \pm 3,52^*$
	МДА	$2,62 \pm 0,29$	$2,88 \pm 0,42$
Головний мозок	ДК	$5,25 \pm 0,51$	$9,24 \pm 1,18^{**}$
	МДА	$1,05 \pm 0,17$	$8,59 \pm 1,63^{***}$
Серце	ДК	$5,47 \pm 0,59$	$11,19 \pm 1,94^{**}$
	МДА	$1,91 \pm 0,39$	$3,79 \pm 0,74^*$
Печінка	ДК	$10,32 \pm 1,57$	$14,86 \pm 1,81$
	МДА	$1,16 \pm 0,28$	$3,84 \pm 0,59^{**}$

Примітка: Різниця з контролем вірогідна: *** — $p < 0,001$, ** — $p < 0,01$, * — $p < 0,05$.

Перекисне окиснення ліпідів в умовах гіпоксії

Активізація вільнорадикального окиснення в крові щурів за гіпоксії може бути обумовлена зміною активності антиоксидантних ферментів. Показано, що в еритроцитах спостерігається інактивація ферменту первинного антиоксидантного захисту — СОД — на 25,6% (табл. 2).

Таблиця 2

Активність каталази, СОД, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г6ФДГ) і церулоплазміну в еритроцитах за гіпоксичної гіпоксії

Показник	Контроль	Гіпоксія
Кatalаза, од/мг білка	$49,10 \pm 5,91$	$50,92 \pm 4,80$
СОД, од/мг білка	$44,6 \pm 3,7$	$33,2 \pm 2,8^*$
Г6ФДГ, нмоль НАДФН/хв/мг білка	$11,25 \pm 1,71$	$17,97 \pm 1,30^*$
Церулоплазмін, мкм/г білка	$3,23 \pm 0,41$	$3,59 \pm 0,38$

Примітка: * — різниця з контролем вірогідна ($p < 0,05$).

При цьому активність каталази залишається в межах норми, а активність ключового ферменту пентозофосфатного шунту — Г6ФДГ — зростає на 59,7%, в той час як активність одного з основних антиоксидантних білків плазми, якому також притаманна СОД-подібна дія, — церулоплазміну — істотно не змінюється.

Зростання активності Г6ФДГ в еритроцитах за умов гіпоксичної гіпоксії свідчить про посилення синтезу НАДФН в цих клітинах, що є необхідним для інтенсивного функціонування еритроцитарних антиоксидантних систем. Водночас, посилення процесів ПОЛ в крові та дискоординація функціонування антиоксидантних ферментів в еритроцитах свідчать про розвиток патологічних реакцій за умов гіпоксичної гіпоксії і можуть призвести до структурної дестабілізації еритроцитів.

Висновки:

1. В умовах гіпоксичної гіпоксії відбувається активація процесів ПОЛ в плазмі крові, еритроцитах, головному мозку, серцевому м'язі та печінці щурів у порівнянні з контролем.
2. В еритроцитах щурів при гіпоксичної гіпоксії відбувається інактивація СОД, тоді як активність каталази та прооксидазна активність церулоплазміну істотно не змінюються.

3. За умов гіпоксії відбувається посилення активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в еритроцитах, що є ознакою інтенсивного синтезу НАДФН як компенсаторної реакції метаболізму клітин на високий рівень ПОЛ за гіпоксії.

Література

1. Лосев Н. И. Патофизиология гипоксических состояний и адаптация организма к гипоксии. — М.: ММИ, 1982. — 81 с.
2. Мезен Н. И. Биохимические аспекты гипоксического повреждения нервной ткани и его коррекция производными многоатомных фенолов. Автореф. дис. ...канд. биол. наук: 03.00.04 / Минский гос. мед. ин-т. — Минск, 1998. — 18 с.
3. Рыженков В. Е., Ремезова О. В. Роль гипоксии и эффективность антигипоксантов при атеросклерозе // Гипоксия и окислительные процессы. — Н. Новгород: Изд-во Нижегород. мед. ин-та, 1993. — С. 98–110.
4. Медведев Ю. В., Толстой А. Д. Гипоксия и свободные радикалы в развитии патологических состояний организма. — М.: Терра-Календар и Промоушн, 2000. — 232 с.
5. Effect of antioxidant supplementation on ozone-induced lung injury in human subjects / Samet J. M., Hatch G. E., Horstman D. et al. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. — 2001. — V. 164. — P. 819–825.
6. Коррелятивные связи между активностью супероксиддисмутазы, каталазы и глутатион-пероксидазы печени мышей / Мурадян Х. К., Утко Н. А., Мозжухина Т. Г. и др. // Укр. біохім. журн. — 2003. — Т. 75, № 1. — С. 33–37.
7. Якименко І. Л., Сидорик Є. П. Регуляторна дія низькоінтенсивного лазерного випромінювання на стан антиоксидантної системи організму // Укр. біохім. журн. — 2001. — Т. 73, № 1. — С. 16–23.
8. Стальная И. Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С. 63–64.
9. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С. 66–68.
10. Определение активности каталазы / Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16–19.
11. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело. — 1985. — № 11. — С. 78–81.
12. Колб В. Г., Камышников В. С. Справочник по клинической химии. — Минск: Беларусь, 1982. — 366 с.
13. Vannoorden C., Dolbeare F., Aten J. Detection of glucose-6-phosphate-dehydrogenase in human erythrocytes // J. Histochem. Cytochem. — 1989. — V. 37, № 9. — P. 1313–1318.
14. Protein measurement with the Folin phenol reagent / Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. Z., Randal L. J. // J. Biol. Chem. — 1951. — V. 193. — P. 265–275.
15. Гланц С. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. — М.: Практика, 1998. — 459 с.

Е. А. Абрамова, А. В. Запорожченко

Одесский национальный университет, кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина. Тел: (0482) 68-78-75

**ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И СИСТЕМА
АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ЭРИТРОЦИТАХ КРЫС
В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ**

Резюме

Исследовано влияние гипоксической гипоксии на содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность супероксиддисмутазы, каталазы, церулоплазмина и глюкозо-6-fosfatdehydrogenазы в крови и органах крыс. Установлено, что при гипоксии происходит активация ПОЛ в плазме крови, эритроцитах, головном мозге, сердце и печени крыс. В эритроцитах крыс наблюдается снижение активности супероксиддисмутазы и повышение активности глюкозо-6-fosfatdehydrogenазы.

Ключевые слова: гипоксия, перекисное окисление липидов.

E. A. Abramova, A. V. Zaporozchenko

Odessa National University, Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine. Tel: (0482) 68-78-75

**LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT DEFENCE SYSTEM
IN RATS ERYTHROCYTES UNDER CONDITIONS OF HYPOXIC
HYPOXIA**

Summary

The influence of hypoxic hypoxia on lipid peroxidation products content and superoxide dismutase, catalase, ceruloplasmin and glucose-6-phosphate-dehydrogenase activity in blood and organs of rats has been investigated. It was shown that during hypoxia activation of lipid peroxidation in plasma, erythrocytes, brain, heart and liver of rats takes place. In rats erythrocytes superoxide dismutase activity decreasing and glucose-6-phosphate-dehydrogenase activity rising are observed.

Keywords: hypoxia, lipid peroxidation.

УДК 577.152.31:591.3/.4/.8:595.773.4

А. М. Андриевский, канд. биол. наук, доц., докторант,
В. А. Кучеров, мл. науч. сотр., **В. Н. Тоцкий**, д-р биол. наук, проф.,
зав. каф., **Е. В. Деркач**, магистр

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

ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ КАРБОКСИЭСТЕРАЗ У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Используя метод компьютерной денситометрии, проводили сравнительный качественно-количественный анализ экспрессии карбоксиэстераз в онтогенезе дрозофилы после их электрофоретического разделения в полиакриламидном геле и выявления активности по способности расщеплять сложные эфиры низших и высших карбоновых кислот. Установлено, что максимум экспрессии нафтилацетазной активности совпадает с имагинальной фазой развития плодовой мухи, тогда как пик активации липаз сопряжён с куколочной стадией онтогенеза. Показаны генетически зависимые индивидуальные и половые различия в проявлении активности карбоксиэстераз у репродуктивно-способных особей дрозофилы. Приведены популяционно-статистические показатели уровня экспрессии карбоксиэстераз в онтогенезе лабораторной линии дрозофилы дикого типа.

Ключевые слова: карбоксиэстеразы, онтогенез, дрозофила.

Индивидуальное развитие организмов сопровождается радикальными изменениями в активности многих ферментных систем [1, 2]. При этом причиной наблюдаемых явлений могут быть те или иные перестройки и сдвиги как на уровне генотипа, так и на параптическом уровне [3].

Как отмечается в ряде работ [4–6], многие протеолитические и эстеролитические ферменты (КФ 3.4; КФ 3.1.1.1 – 10), выполняя в организме важную роль поддержания физиологического баланса свободных и связанных органических кислот, могут вполне адекватно отражать онтогенетические преобразования и демонстрировать адаптационные возможности организма при переходе от одной фазы развития к другой [7]. К сожалению, гидролитические ферменты, и в частности карбоксиэстеразы, в онтогенезе многих видов животных не исследованы, что затрудняет обобщение и систематизацию научных данных. Всё же имеются единичные сообщения о возрастных различиях активности эстераз у отдельных видов рыб [8–10], термитов [11], мух [12] и некоторых других беспозвоночных [13]. При этом, чаще всего онтогенетическая динамика исследуемых ферментов в цитируемых работах представлена фрагментарно и не отражает особенностей всех стадий развития от яйца до взрослой особи.

С учётом этого в данной работе ставится цель изучить динамику экспрессии карбоксиэстераз в онтогенезе лабораторной линии дикого

типа *Drosophila melanogaster*. Поскольку в ранее опубликованной статье [14] было установлено, что на стадии эмбрионального развития дрозофилы выявляется лишь следовая активность исследуемых ферментов, в настоящей работе внимание сосредоточено на постэмбриональном развитии мух.

В задачи исследования входило: 1) обнаружить индивидуальные особенности в экспрессии ацилэстераз и липаз у дрозофилы; 2) изучить многообразие форм карбоксиэстераз на стадиях личинки, куколки и имаго; 3) выявить половые различия в экспрессии изоформ ацилэстераз репродуктивно-способных особей; 4) провести сравнительный анализ экспрессии ацилэстераз и липаз на разных стадиях постэмбрионального развития насекомого.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследований служили 3-суточные личинки, куколки и имаго единой искусственной популяции *Drosophila melanogaster* Meigen дикого типа. Мух содержали на стандартной питательной среде [15] при постоянной температуре (25 °C).

Для получения экстрактов тканей отдельно взятых личинок, куколок, самцов и самок имаго (предварительно наркотизированных диэтиловым эфиром) исследуемый материал гомогенизировали в эппendorфах в течение 2 минут в 20 мкл 0,1 М глицин-NaOH буфера pH 9,0, содержащего 1 % тритона X-100. Гомогенаты центрифугировали при 12 000 g в течение 15 минут при +4 °C, после чего к 20 мкл надосадочной жидкости добавляли по 10 мкл 0,01 % раствора бромфенолового синего, содержащего 60 % сахарозы.

Приготовленные таким образом биологические пробы (14 вариантов экстрактов личинок, 14 — экстрактов куколок, 7 — экстрактов самцов имаго, 7 — экстрактов самок имаго) подвергали электрофорезу в системе щелочного (pH 8,3) вертикально-пластиинчатого 10 % полиакриламидного геля. После электрофореза каждый гелевый блок соответствующей пары рабочих пластин разрезали пополам с целью дальнейшего сравнения экспрессии нафтилацетазной и липазной активностей у одних и тех же особей. Каждую половину геля отмывали дистиллированной водой до нейтрального значения pH и замачивали на 15 минут в 25 мл 0,1 М трис-глицинового буфера pH 7,4. Одни из половин двух параллельных гелевых блоков помещали в среду того же буфера объёмом 25 мл с добавкой 12 мг α-нафтилацетата, 12 мг β-нафтилацетата и 25 мг синего прочного В; другие — заливали 25 мл 0,2 % твина 85, приготовленного на трис-глициновом буфере, содержащем 0,4 % CaCl₂. Гели в среде с нафтилацетатами инкубировали 1 час, в среде с сорбитан-триолеатом — 2 часа при температуре 25 °C. Ферментативный гидролиз нафтоловых эфиров останавливали, заливая гели дистиллятом, доведенным до температуры кипения. Реакцию расщепления твина прекращали, обрабатывая гели в течение 15 минут 25 мл 1 % раствора уксуснокислого свинца. Образующийся в геле в местах локализации липаз осадок "свинцового мыла" выявляли с помощью 1 % раствора сульфида натрия (объём — 25 мл), выдерживая в нём гель 15 минут.

После тщательного промывания соответствующие друг другу половины гелевых блоков совмещали и денситометрировали, используя специальную компьютерную программу "АнаИС". Уровень экспрессивности изучаемых ферментов оценивали по показателям оптической плотности каждой изоформы карбоксиэстеразы в расчёте на количество биологического материала, полученного от одной особи. Статистическую обработку первичных данных проводили согласно [16]. В работе использованы реактивы зарубежных фирм "Reanal" (Венгрия), "Chemapol" (Чехия), "Serva" (Германия). Аналитический электрофорез осуществляли с помощью прибора "VE-4" российского производства.

Выявление карбоксиэстераз в полиакриламидном геле с использованием синтетических эфиров низших и высших карбоновых кислот проводили в соответствии с классическими гистохимическими методами Гомори [17] и Чайна [18].

Результаты исследования и обсуждение

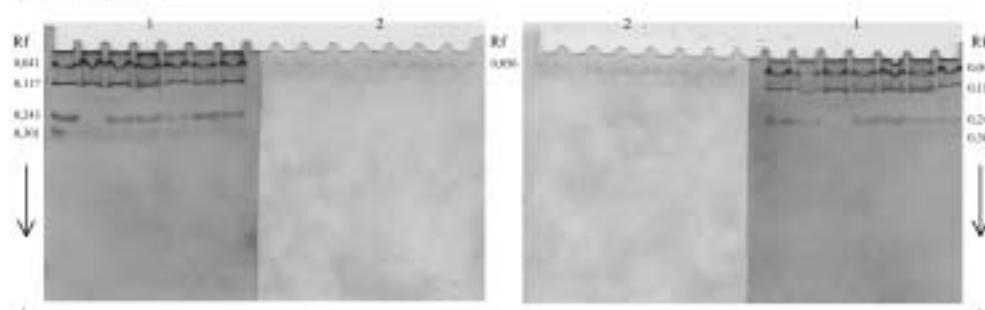
Анализ уровня экспрессии различных молекулярных форм карбоксиэстераз, проявляющих как нафтилацетазную, так и липазную активность, показал, что на всех стадиях постэмбрионального развития у особей дрозофилы наблюдаются индивидуальные различия, особенно характерные для фракций ферментов с Rf 0,230 и 0,250 (рис. 1–2, табл. 1). На стадии имаго, кроме того, ярко выражены половые различия, связанные с более высоким уровнем экспрессии карбоксиэстеразы 1 (Rf 0,250) у самцов по сравнению с таковым у самок. Так, средний показатель экспрессии этого ферmenta, представленный в условных единицах оптической плотности, у особей мужского пола оказался в 2 раза более высоким по сравнению с тем же параметром у самок. В связи с этим есть основания полагать, что более высокий уровень экспрессии данного ферmenta у самцов связан с дополнительной локализацией его в тканях репродуктивного аппарата [19].

Результаты данного исследования указывают на то, что наличие, а также уровень экспрессии изучаемых карбоксиэстераз в тканях находятся в определённой зависимости от стадии постэмбрионального развития дрозофилы. Следует подчеркнуть, что набор молекулярных форм карбоксиэстераз, проявляющих как α -фильность, так и β -фильность по отношению к нафтоль-производным уксусной кислоты, в ходе онтогенеза не изменяется. Тем не менее, от стадии личинки к стадии куколки и далее к стадии взрослой мухи наблюдается постепенное нарастание уровня экспрессии отдельных форм эстераз (например, эстеразы 4, эстеразы 3, эстеразы 1). В отличие от этого, стадия личинки характеризуется крайне слабой выраженностю экспрессии липаз. Их изоформы представлены всего лишь двумя электрофоретически слабоподвижными вариантами (Rf 0,056 и 0,117). Слабая активность липополитических ферментов у личинок скорее всего связана с тем, что на этой фазе развития насекомое не только не использует жиры в качестве источника питания, но и не реализует ассимилируемые им липиды как энергетический ресурс [20, 21]. Более того, поскольку на электрофореграммах локализация эстеразных и липазных полос у ли-

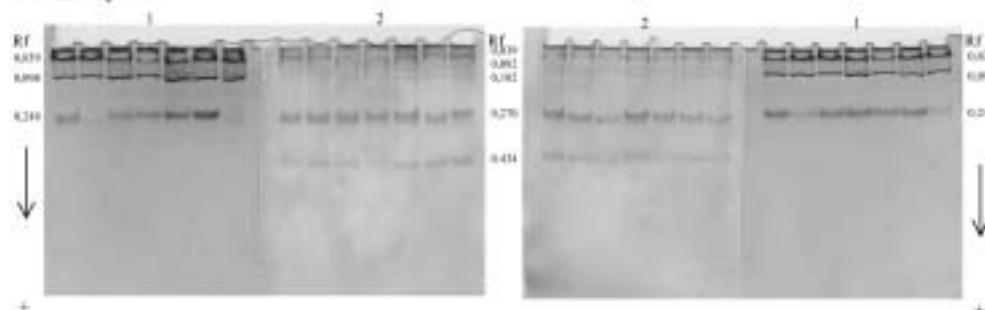
Экспрессия карбоксиэстераз в онтогенезе дрозофилы

чинок практически совпадает, можно предположить, что функцию липаз на этой стадии развития мух выполняют эстераза 4 и эстераза 3. Есть данные [14], что по физико-химическим свойствам эти ферменты более всего соответствуют ацетилхолинэстеразе и С-эстеразе.

I. Стадия личинки



II. Стадия куколки



III. Стадия имаго: самки

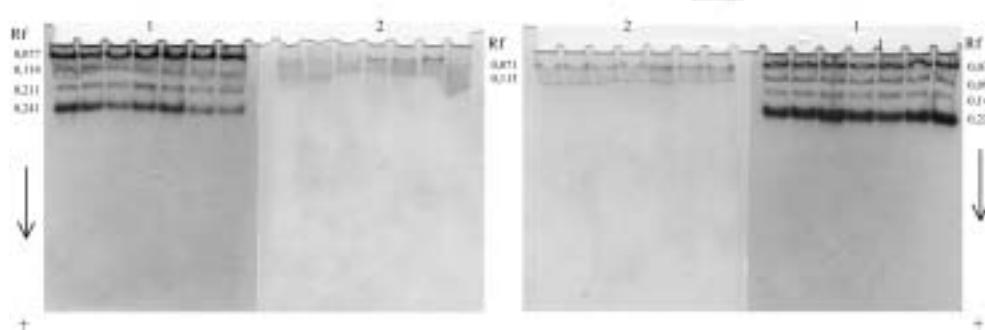
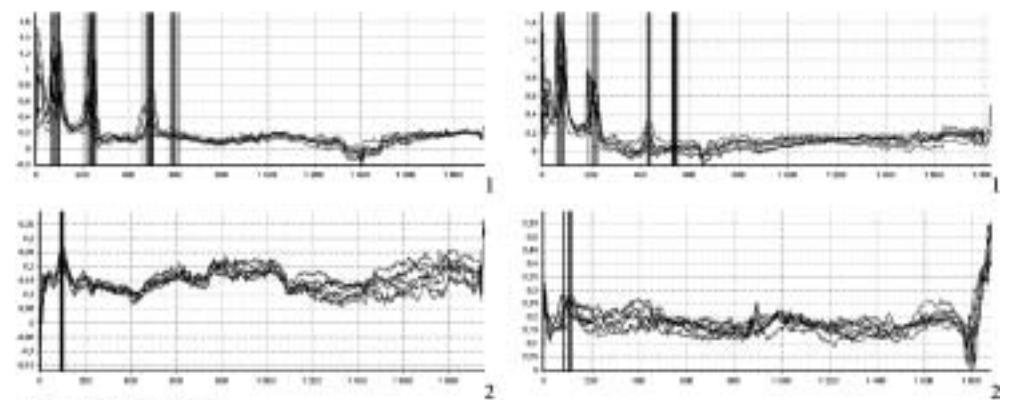


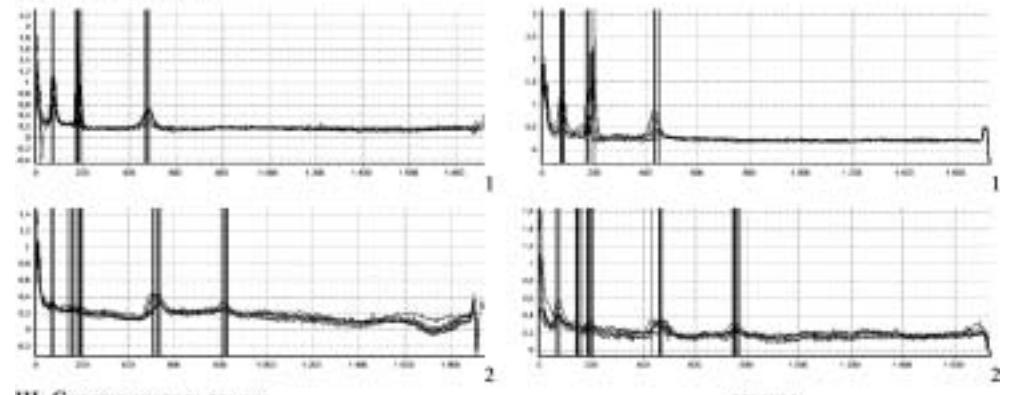
Рис. 1. Качественные изменения экспрессии карбоксиэстераз в онтогенезе *Drosophila melanogaster* Meigen: 1 — нафтилацетазная активность; 2 — липазная активность. Стрелками указано направление движения ферментов в геле

Примечательно то, что на стадии личинки карбоксиэстераза 1, проявляющая β -нафтилацетазную активность, совершенно не обладает способностью расщеплять твин 85. Судя по результатам данного исследования, максимально выраженные онтогенетические преобразования в системе карбоксиэстераз происходят на куколочной стадии развития дрозофилы.

I. Стадия личинки



II. Стадия куколки



III. Стадия имаго: самки

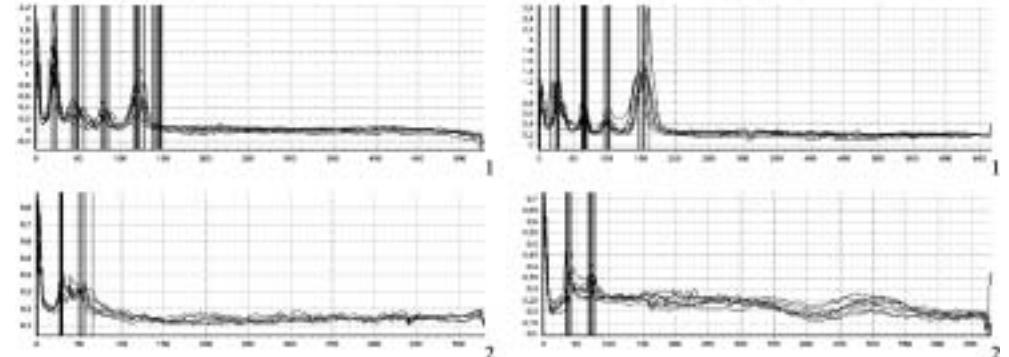


Рис. 2. Количественные изменения экспрессии карбоксиэстераз в онтогенезе *Drosophila melanogaster* Meigen: На денситограммах: по оси x — расстояние от линии старта до линии фронта на гелевом блоке (пиксели); по оси y — оптическая плотность фракций, соответствующих локализации карбоксиэстераз в гелевом блоке (условные единицы). 1 — нафтилацетазная активность; 2 — липазная активность

Таблица 1

Онтогенетические изменения экспрессии карбоксиэстераз у *Drosophila melanogaster* Meigen

Стадии развития	Изоформы карбоксиэстераз, Rf (M ± m; n = 7 – 14)	Экспрессия карбоксиэстераз, Od (M ± m; n = 7 – 14)	
		Нафтилацетазная	Липазная
I. Личиночная	0,041 ± 0,002	1,300 ± 0,040	—
	0,056 ± 0,003	—	0,252 ± 0,008
	0,117 ± 0,003	0,924 ± 0,103	0,190 ± 0,006
	0,243 ± 0,004	0,359 ± 0,062	—
	0,301 ± 0,003	0,129 ± 0,020	—
II. Куколочная	0,039 ± 0,001	0,972 ± 0,062	0,388 ± 0,023
	0,082 ± 0,005	—	0,267 ± 0,007
	0,098 ± 0,003	1,666 ± 0,176	—
	0,102 ± 0,002	—	0,299 ± 0,007
	0,248 ± 0,002	0,500 ± 0,048	—
	0,270 ± 0,003	—	0,350 ± 0,013
	0,434 ± 0,001	—	0,271 ± 0,010
III. Имагинальная	самки	0,077 ± 0,001	1,397 ± 0,150
		0,086 ± 0,001	—
		0,114 ± 0,002	0,345 ± 0,035
		0,120 ± 0,004	—
		0,157 ± 0,003	0,318 ± 0,015
		0,211 ± 0,003	—
		0,241 ± 0,003	—
III. Имагинальная	самцы	0,036 ± 0,002	1,142 ± 0,083
		0,056 ± 0,002	—
		0,096 ± 0,001	0,370 ± 0,022
		0,106 ± 0,002	—
		0,149 ± 0,001	0,361 ± 0,009
		0,229 ± 0,003	—

Примечание: приведенные в таблице данные по экспрессии ферментов отражают средние показатели оптической плотности (Od, условные единицы) фракций в гелевом блоке, соответствующих локализации изоформ карбоксиэстераз; — активность исследуемого фермента не выявлена.

Наряду с хорошо выраженной липолитической активностью двух медленноподвижных форм α -фильных эстераз, имеет место экспрессия β -фильного фермента, с нафтилацетазной активностью которого ассоциирована способность гидролизовать эфиры высших карбоновых кис-

лот. Кроме того, только на этой стадии онтогенеза экспрессируется истинная липаза, не обладающая нафтилацетазной активностью. Этот фермент среди тестируемых карбоксиэстераз дрозофилы стоит на первом месте по электрофоретической подвижности ($R_f = 0,434$). Функция *in vivo* этой липазы, а также β -эстеразы 1, обладающей липазной активностью, скорее всего связана с реализацией на стадии куколки депонированных в клетках жирового тела липидов, поскольку с переходом к следующей фазе развития полностью утрачивается способность какой-либо из указанных форм карбоксиэстераз гидролизовать эфир олеиновой кислоты. Так же, как у личинок и куколок, у самцов и самок имаго одновременно эстеразной и липазной активностью обладают две медленно подвижные α -фильтные формы карбоксиэстераз, однако степень их активности по отношению к твину менее выражена по сравнению с таковой на стадии куколки.

В отличие от выраженных половых различий в проявлении β -эстеразной активности, различия в экспрессии липаз у самцов и самок едва заметны: средние показатели оптической плотности соответствующих фракций ферментов у этих особей практически совпадают (рис. 2, табл. 1). Среднестатистические данные, отражающие онтогенетические особенности экспрессии карбоксиэстеразы 1, как наиболее показательного фермента, представлены на рис. 3.

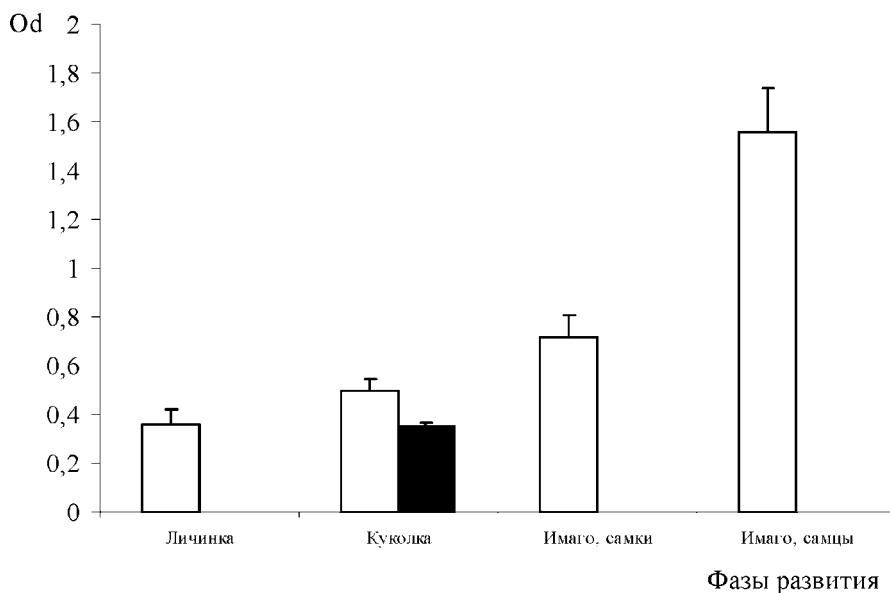


Рис. 3. Онтогенетические изменения экспрессии β -фильтной карбоксиэстеразы у *Drosophila melanogaster* Meigen: Представлены показатели оптической плотности (Od, условные единицы) фракций, соответствующих локализации ферментов в гелевом блоке. □ — нафтилацетазная активность, ■ — липазная активность

Как видно из рисунка, на куколочной стадии изучаемый фермент проявляет двойственную функцию: с одной стороны гидролизует β -нафтилацетат, с другой — твин. При этом он ведёт себя как эстero-

липаза, в отличие от других форм карбоксиэстеразы, проявляющих на стадиях личинки и имаго исключительно β -нафтилацетазную активность. Не исключено, что наблюдаемая бифункциональность описываемого фермента может оказаться артефактом, поскольку проявление липазной активности может быть сопряжено с особым энзимом, электрофоретические характеристики которого близки или полностью совпадают с таковыми β -нафтилацетазы. Это же может относиться и к другим изоформам карбоксиэстераз, проявляющих липазную активность. Поэтому для окончательного заключения необходимы дальнейшие экспериментальные исследования.

Выводы

1. Генетически однородная по внешним фенотипическим признакам лабораторная линия дрозофилы дикого типа (линия Normal) характеризуется разной экспрессивностью карбоксиэстеразы на стадиях личинки, куколки и имаго. При этом наблюдаются специфические изменения липазной и нафтилацетазной активностей карбоксиэстераз с максимальной экспрессией на стадиях куколки и имаго.
2. Индивидуальные и половые различия у имаго наиболее характерны для карбоксиэстеразы 1, обладающей β -нафтилацетазной активностью.
3. На стадии куколки наряду с β -нафтилацетазой, ассоциированной с липолитической активностью, экспрессируется липаза, не обладающая способностью расщеплять нафтилацетаты.
4. Совпадение либо близкое расположение зон проявления нафтилацетазной и липазной активностей в гелевых блоках может быть связано как с групповой субстратной специфичностью одних и тех же форм карбоксиэстераз, так и с наличием разных ферментов со сходными электрофоретическими характеристиками.

Литература

1. Корочкин Л. И., Серов О. Л., Пудовкин А. И. и соавт. Генетика изоферментов. — М.: Наука, 1977. — 275 с.
2. Корочкин Л. И. Молекулярно-генетические механизмы регуляции тканеспецифической экспрессии генов est S у дрозофилы // Мол. биология. — 2000. — Т. 34, № 5. — С. 736–742.
3. Cooke P. H., Oakeshott J. G. Amino acid polymorphisms for esterase-6 in *Drosophila melanogaster* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1989. — V. 86. — P. 1426–1430.
4. Тоцкий В. Н., Хаустова Н. Д., Андреевский А. М., Гандирук Н. Г., Белова Г. И., Есеркепова Е. В. Экспрессивность ген-энзимных систем и показатели жизнеспособности в онтогенезе инбриедных линий и гибридов дрозофилы // Генетика. — 1990. — Т. 26, № 10. — С. 1791–1799.
5. Тоцкий В. Н., Есеркепова Е. В., Джан Зе Ук. Ген-энзимная система эстеразы-6 и устойчивость дрозофилы к повышенной температуре // Генетика. — 1994. — Т. 30, № 3. — С. 342–348.
6. Андрієвський О. М. Фізико-хімічні властивості гідроксидної пептидгідролази травної системи дрозофіли // Вісник ОНУ, 2002. — Т. 7. — Вип. 1. — С. 5–14.
7. Глазко В. И., Созинов И. А. Генетика изоферментов животных и растений. — Киев: Урожай, 1993. — 528 с.

8. Бурлаков А. Б., Макеева А. П., Рябов И. Н. Изоферментный состав гибридных и гиногенетических форм некоторых карповых рыб на ранних стадиях онтогенеза. — В кн.: Биохимическая генетика рыб. — Л., 1973. — 211 с.
9. Щеглова Н. В., Илясов Ю. И. К вопросу об эстеразах у карпа (*Cyprinus carpio L.*). — В кн.: Биохимическая и популяционная генетика рыб. — Л., 1979. — 184 с.
10. Иваненков В. В. Эстераза-2 в развитии вьюна (*Misgurnus fossilis*). Гетерогенность яиц вьюна по экспрессии аллельных генов эстеразы-2. — В кн.: Биохимическая и популяционная генетика рыб. — Л., 1979. — 184 с.
11. Ruvolo-Takasusuki Maria Claudia C., Collet Thais. Characterization of *Nasutitermes globiceps* (Isoptera: Termitidae) esterases // Biochem. Genet. — 2000. — V. 38, N 11–12. — P. 367–375.
12. Григорьева Г. М., Лежнёва Т. И. и соавт. Молекулярные формы ацетилхолинэстеразы мозга трёх видов мух рода *Delia*. Видовое разнообразие. // Журн. эволюц. биохим. и физiol. — 1992. — Т. 28, № 3. — С. 401–404.
13. Язловецкий И. Г., Лупу Е. И., Каплан П. Б., Аймерт К. М. Характеристика кишечных липаз и новые сведения о механизме питания личинок златоглазки обыкновенной *Chrysopa carnea* // Журн. эволюцион. биохим. и физiol. — 1993. — Т. 29, № 2. — С. 139–145.
14. Андрієвський А. М., Кучеров В. А., Тоцький В. Н. Методические проблемы изучения полиморфизма карбоксиэстераз в онтогенезе *Drosophila melanogaster* // Вісник ОНУ, 2004. — Т. 9. — Вип. 1. — С. 15–24.
15. Медведев Н. Н. Практическая генетика. — М.: Наука, 1968. — 294 с.
16. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — Минск: Высшая школа, 1973. — 320 с.
17. Берстон М. Гистохимия ферментов. — М.: Мир, 1965. — 464 с.
18. Лизосомы. Методы исследования / Под ред. Д. Дингла. — М.: Мир, 1980. — 342 с.
19. Балакирев Е. С., Ф. Дж. Айала. Нуклеотидная изменчивость β-эстеразных генов в природных популяциях *Drosophila melanogaster* // Успехи совр. биол., 2004. — Т. 124, № 4. — С. 378–389.
20. Харсун А. И. Биохимия насекомых. — Кишинёв: Картия Молдовеняскэ, 1976. — 336 с.
21. Тыщенко В. П. Физиология насекомых. — М.: Высшая школа, 1986. — 303 с.

О. М. Андрієвський, В. О. Кучеров, В. М. Тоцький, К. В. Деркач

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра генетики та молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ОНТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ КАРБОКСИЕСТЕРАЗ У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Резюме

Використовуючи метод комп'ютерної денситометрії, проводили порівняльний якісно-кількісний аналіз експресії карбоксиестераз в онтогенезі дрозофілі після їх електрофоретичного поділу в поліакриlamідному гелі і прояву активності стосовно складних ефірів нижчих та вищих карбонових кислот. Встановлено, що максимум експресії нафтилацетазної активності співпадає з імагінальною фазою розвитку плодової мухи, тоді як пік активності ліпаз виявляється на стадії лялечки. З'ясовано генетично залежні індивідуальні та статеві відмінності прояву активності карбоксиестераз у репродуктивно-здатних особин дрозофілі. Наведено популяційно-статистичні показники рівня експресії карбоксиестераз в онтогенезі лабораторної лінії дрозофілі дикого типу.

Ключові слова: карбоксиестерази, онтогенез, дрозофіла.

A. M. Andrievsky, V. A. Kucherov, V. N. Totsky, E. V. Derkach

Odessa National I.I. Mechnikov University,
Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

**ONTOGENETIC PECULIARITIES OF THE CARBOXYLESTERASE
EXPRESSION IN *DROSOPHILA MELANOGASTER***

Summary

Using the method of computer densitometry we carried out a comparative qualitative and quantitative analysis of the ontogenetically dependent expression of the drosophila carboxylesterases after their electrophoretic separation in polyacrylamide gel, and investigated an appearance of the activity with respect to the esters of the lower and higher carbonic acids. It was established that the maximum expression of the naphthylacetate activity coincides with imago phase of the drosophila cycle, whereas the peak of lipase activity is connected to the chrysalis ontogenetic phase. Genetically dependent individual and genital differences in carboxylesterase activity level for the reproductive capable drosophilae were shown. The population statistic indicators of the carboxylesterase expression level in ontogenesis of the laboratory line of the drosophila wild type are given.

Keywords: carboxylesterases, ontogenesis, drosophila.

УДК 577.15

I. Л. Вовчук, канд. біол. наук, докторант

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна.
Tel: (0482) 68-78-75 e-mail: irvov@mail.ru

АКТИВНІСТЬ КАРБОКСИПЕПТИДАЗИ А В НОВОУТВОРЕННЯХ ЯЄЧНИКА

Досліджена активність карбоксипептидази А доброкісних та злоякісних новоутворень яєчника. Встановлено підвищення активності ферменту за наявності новоутворень. В злоякісних новоутвореннях активність ферменту зворотньопропорційна ступеню диференціації пухлинних клітин.

Ключові слова: карбоксипептидаза А, яєчник, пухлина.

Оскільки протеолітичний потенціал клітин в значному ступені визначається лізосомним апаратом, дослідження маловивчених лізосомальних екзопептидаз, зокрема карбоксипептидази А, викликає особливу зацікавленість.

Лізосомальна карбоксипептидаза А (КФ 3.4.2.1) синтезується у вигляді неактивного попередника, який перетворюється в активну форму під впливом трипсину, хімотрипсину, субтилізину, урокінази.

Карбоксипептидаза містить атоми Zn^{2+} , має пептидазну та естеразну активність та широко використовується в препаративній біохімії для визначення С-кінцевих амінокислот [1]. Будучи типовою пептидазою, вона розщеплює С-кінцевий пептидний зв'язок поряд з ароматичною амінокислотою в звичайних білках та в низькомолекулярних синтетичних субстратах [2, 3].

Збільшення активності карбоксипептидази А виявлено у епітеліальній трансплантованій ацинарній карциномі підшлункової залози щурів [4], за експериментальної глюкокортикоїдної міопатії у кролів [5], в клітинах підшлункової залози великої рогатої худоби за вірусіндукованого діабету [6] та при захворюваннях підшлункової залози, які супроводжуються появою двох форм карбоксипептидази, відсутніх у здорових людей [7]. Підвищення активності ферменту виявлено в доброкісних новоутвореннях тканин тіла матки [8], молочної залози [9] та в асцитній рідині жінок, хворих на карциному яєчника. Встановлена антиканцерогенна дія карбоксипептидази А, яка індукує диференціацію проліферуючих клітин [10, 11], диференціацію мукозних клітин в серозні [12], а в культурі клітин андрогеннезалежного раку простати вона викликає гіперацетилючу дію на гістони [13].

Однак, у світовій літературі нами не виявлено досліджень, присв'ячених визначенню активності карбоксипептидази А в пухлинних тканинах яєчника, незважаючи на те, що в останні роки вона викорис-

Активність карбоксипептидази А в новоутвореннях яєчника

товається як складова частина моноклональних препаратів в хіміотерапії онкозахворювань [14–19].

Мета роботи — дослідження активності карбоксипептидази А в тканинах новоутворень яєчника за наявністю доброкісного та злоякісного процесу з урахуванням вікових особливостей жіночого організму.

Матеріали і методи

Досліджували гомогенати неураженої тканини та зразки новоутворень яєчника, вилучених операційним шляхом у жінок, які не отримували медикаментозного доопераційного лікування. Патоморфологічні діагнози були верифіковані за міжнародною класифікацією ВОЗ із визначенням морфологічного стану і ступеня диференціації трансформованих клітин пухлинної тканини [20].

Тканини гомогенізували в 0,9 % розчині NaCl (у співвідношенні 1:10) і центрифугували при 12000 обертів/хв (при +4 °C) протягом 45 хвилин.

У супернатанті визначали активність карбоксипептидази А по гідролізу синтетичного субстрату карбобензоксифеніл-ала — 2 мМ [21] та вміст білка — за методом Lowry [22]. Оптичну щільність визначали при довжині хвилі 570 нм, відносну активність ферментів виражали в мкмоль фенілаланіну на мг тканини за 30 хв інкубації при 37 °C, питому активність — в мкмоль фенілаланіну на мг білка. Статистичну значимість відмінностей між вибірками визначали за допомогою критерія Ст'юдента [23].

Результати та їх обговорення

Вивчення активності карбоксипептидази А в тканинах яєчника непухлинного походження та в тканині доброкісного новоутворення — цисаденоми, показало вірогідне збільшення відносної активності ферменту в 1,8–2,9 рази, а питомої — в 1,5–2,5 рази щодо показників тканині неушкодженого яєчника (табл. 1).

Найменша активність карбоксипептидази, яка незначно відрізняється від показників неураженої тканини, встановлена при рубцовому склерозі, а найбільша — при кістозній хворобі та в рубцовій тканині білих тіл (табл. 1), що може свідчити про участь ферменту в процесі ремоделювання сполучної тканини.

Збільшення активності ферменту може здійснюватися за рахунок більш інтенсивної експресії генів, кодуючих його структуру, що було показано роботами Kikuchi (1989) на трансгенних щурах, в цитоплазмі яких виявлено збільшення кількісного рівня мРНК за наявності пухлин [10]. Іншою причиною може бути активація ферментів під впливом метаболітів пухлини.

Вивчення активності карбоксипептидази А за злоякісного процесу виявило збільшення відносної та питомої активності ферменту (відносно показників неураженої тканини яєчника) в 1,5–2,16 та 1,3–2,5 рази, відповідно, за винятком високодиференційованої форми аденокарциноми та ембрионального раку (табл. 2).

Таблиця 1
Активність карбоксипептидази А в тканині яєчника жінок з непухлиною та доброкісною патологією

Патоморфологічний критерій	n	С білка, г/г тканини	ммоль фен/ мг тканини	мкмоль фен/мг білка
Тканина неураженого яєчника	150	0,096±0,010	0,173±0,018	1,80±0,187
Непухлини патології яєчника: рубцовий склероз	48	0,089±0,009	0,171±0,019	1,92±0,200
кіста	21	0,117±0,019	0,502±0,051↑*	4,29±0,437↑*
рубцовий склероз + кіста	15	0,066±0,008	0,184±0,019	2,78±0,284↑
рубцові білі тіла	22	0,119±0,013	0,531±0,057↑*	4,46±0,462↑*
Доброкісні новоутворення: цисаденома	37	0,115±0,013	0,314±0,034↑*	2,73±0,292↑

Примітка: ↑ — вірогідне збільшення активності карбоксипептидази А в тканині яєчника з непухлиною та доброкісною патологією в порівнянні з неушкодженою тканиною ($p<0,05$); * — вірогідне збільшення активності карбоксипептидази А в тканині яєчника з непухлиною та доброкісною патологією в порівнянні з тканиною рубцового склерозу ($p<0,05$).

Таблиця 2
Активність карбоксипептидази А в тканині злюкісних новоутворень яєчника

Патоморфологічний критерій	n	С білка, г/г тканини	ммоль фен/ мг тканини	мкмоль фен/мг білка
Тканина неураженого яєчника	150	0,096±0,010	0,173±0,018	1,80±0,187
Злюкісні новоутворення: низькодиференційована аденокарцинома	24	0,113±0,012	0,298±0,032↑	2,64±0,281↑
помірнодиференційована аденокарцинома	46	0,109±0,009	0,260±0,029↑	2,39±0,241
високодиференційована аденокарцинома	17	0,125±0,014	0,227±0,026	1,82±0,196
ембріональний рак	12	0,106±0,013	0,214±0,024	2,02±0,218
ендодермальна пухлина	12	0,083±0,010	0,374±0,041↑*	4,51±0,471↑*
гранульозоклітинна пухлина	11	0,102±0,016	0,309±0,040↑	2,58±0,263↑

Примітка: ↑ — вірогідне збільшення активності карбоксипептидази А в тканині злюкісних новоутворень в порівнянні з неушкодженою тканиною ($p<0,05$); * — вірогідне збільшення активності карбоксипептидази А в тканині злюкісних новоутворень в порівнянні з високодиференційованою формою аденокарциноми ($p<0,05$).

Нами було встановлена найвища активність ферменту в ендодермальній та гранульозотканинної пухлинах, і по мірі зниження ступеня диференціації клітин пухлинної тканини аденокарциноми яєчника активність досліджуваного ферменту зростає. Ці результати істотно відрізняються від результатів, отриманих нами в дослідженнях пухлин ендометрію [8], і співпадають з результатами наших досліджень

Таблиця 3

Активність карбоксипептидази А в тканині яєчника у жінок різного віку

Вік, років	Неушкоджена тканина				Добрякісні новоутворення				Злоякісні новоутворення			
	n	С білка, г/г тканини	ммоль фен/мг тканини	мкмоль фен/мг білка	n	С білка, г/г тканини	ммоль фен/мг тканини	мкмоль фен/мг білка	n	С білка, г/г тканини	ммоль фен/мг тканини	мкмоль фен/мг білка
21-30	25	0,101±0,012	0,176±0,019	1,74±0,182	10	0,085±0,010	0,181±0,020	2,13±0,121	10	0,076±0,009	0,183±0,020	3,27±0,346↑
31-40	25	0,094±0,011	0,182±0,020	1,94±0,201	11	0,082±0,010	0,278±0,031↑	3,39±0,362↑	11	0,093±0,011	0,373±0,041↑	4,01±0,423↑
41-50	25	0,096±0,010	0,209±0,022	2,17±0,221	24	0,086±0,011	0,392±0,043↑	4,58±0,489↑	49	0,122±0,014	0,369±0,039↑	3,03±0,329↑
51-60	25	0,103±0,013	0,216±0,022	2,09±0,220	47	0,109±0,012	0,451±0,052↑	4,14±0,443↑	31	0,126±0,014	0,296±0,033	2,35±0,270
61-70	25	0,120±0,014	0,167±0,019	1,39±0,146	41	0,108±0,014	0,267±0,031↑	2,47±0,271↑	11	0,118±0,013	0,258±0,029	2,19±0,237
Більше 70	25	0,081±0,010	0,114±0,013	1,40±0,152	10	0,113±0,013	0,236±0,027↑	2,09±0,260	10	0,085±0,010	0,171±0,019	2,02±0,221

Приимка: ↑ — вірогідне підвищення активності карбоксипептидази А відносно показників неураженої тканини у відповідних вікових групах, $p<0,05$. Найбільша відносна та питома активності ферменту були встановлені у жінок з добрякісною патологією у віці від 41 до 60 років, коли в організмі відбуваються гормональні перебудови, а у жінок із злоякісною патологією — у віці від 31 до 50 років, що свідчить про вікові особливості досліджуваних процесів.

щодо іншого гормончутивого органа — молочної залози [9], що може свідчити про неспецифічність досліджуваного процесу (табл. 2).

Порівняльне вивчення активності карбоксипептидази А в тканинах неураженого яєчника не виявило вірогідної різниці у жінок різного віку, але має тенденцію до зниження у жінок після 60 років (табл. 3).

Наявність доброкісної та злоякісної патології у жінок однієї вікової групи характеризувалася завжди підвищеннем відносної та питомої активностей карбоксипептидази А щодо жінок з неураженим яєчником (табл. 3).

Висновки

1. За доброкісних та злоякісних новоутворень активність карбоксипептидази А в тканині яєчника зростає.
2. Активність досліджуваного ферменту в тканині аденокарциноми яєчника змінюється зворотньопропорційно ступеню диференціації пухлинних клітин.
3. Активність карбоксипептидази А за наявності доброкісної патології яєчника зростає у жінок у віці від 41 до 60 років, за наявності злоякісного процесу — у жінок віком від 31 до 50 років і має тенденцію до зниження з віком у жінок, які не мають патології.

Література

1. Peterson L. M., Holmgquist B. Human serum procarboxypeptidase A // Biochemistry. — 1983. — V. 22. — № 13. — P. 3077–3082.
2. Spilburg C. A., Bethune J. L., Valee B. L. Kinetik properties of crystalline enzymes. Carboxypeptidase A // Biochemistry. — 1977. — № 16. — P. 1142–1150.
3. Niesel D. W., Pan Y. C., Bewley G. C., Armstrong F., Li S. S. Structural analysis of adult and larval isozymes of sn-glycerol-3-phosphate dehydrogenase of *Drosophila melanogaster* // J. Biol. Chem. — 1982. — V. 257. — № 2. — P. 979–983.
4. Hansen L. J., Mangkornkanok/Mark M., Reddy J. Immunohistochemical localization of pancreatic exocrine enzymes in normal neoplastic pancreatic acinar epithelium of rat // J. Histochem. Cytochem. — 1981. — V. 29. — № 2. — P. 309–313.
5. Sohar I., Nagy I., Heiner I., Kovacs I., Cuba F. Proteases and proteinase inhibitors in experimental glycocorticosteroid myopathy // Acta Physiol. Sci Hung. — 1982. — V. 60. — № 1–2. — P. 43–51.
6. Bendayan M., Ito S., Manocchio I. Alterations of exocrine pancreatic enzymes in virusinduced diabetic cattle as revealed by immunohistochemistry // Diabetologia. — 1982. — V. 23. — № 1. — P. 65–68.
7. Borulf S., Lindberg T., Hansson L. Agarose gel electrophoresis of duodenal juice in normal condition and in children with malabsorption // Scand. J. Gastroenterol. — 1979. — V. 14. — № 2. — P. 151–160.
8. Вовчук І. Л., Чернадчук С. С., Блохін Ю. В., Раздражнюк Г. С. Активність карбоксипептидаз у тканинах новоутворень тіла матки // Вісник ОНУ. — 2004. — Т. 9, вип. 1. — С. 25–33.
9. Вовчук І. Л., Чернадчук С. С., Мотрук Н. В., Філіп'єва К. А., Каланча С. І., Буюклі Л. М. Активність карбоксипептидази А в новоутворенях молочної залози // Вісник ОНУ. — 2004. — Т. 9, вип. 5. — С. 29–35.
10. Kikuchi M., Fukuyama K., Hirayama K., Epstein W. Purification and characterization of carboxypeptidase from terminally differentiated rat epidermal cell // Biochim. Biophys. Asta. — 1989. — V. 991. — № 1. — P. 19–24.

11. Scher W. Scher B. W., Waxman S. Proteases act synergistically with low molecular weight inducers to stimulate mouse erythroleukemia cell differentiation // *Exp. Hematol.* — 1983. — V. 6. — № 11. — P. 490–498.
12. Serafin W. E., Dayton E. T., Gravallese P. M., Austen K., Steven R. Carboxypeptidase A in mouse mast cells. Identification, characterization, and use as differentiation marker // *J. Immunol.* — 1987. — V. 139. — № 11. — P. 3771–3776.
13. Сологуб Л. І., Пашковська І. С., Антоняк Г. Л. Протеази клітин та їх функція — К: Наукова думка. — 1992. — 195 с.
14. Jaime J., Page M. Paclitaxel immunoconjugate for the specific treatment of ovarian cancer in vitro // *Anticancer Res.* — 2001. — V. 21. — № 2a. — P. 1119–1128.
15. Katzav-Gozansky T., Hanan E., Solomon B. Effect of monoclonal antibodies in preventing carboxypeptidase A aggregation // *Biotechnol. Appl. Biochem.* — 1996. — V. 23. — № 3. — P. 227–230.
16. Perron M. J., Page M. Activation of methotrexate-phenylalanine by monoclonal antibody-carboxypeptidase A conjugate for the specific treatment of ovarian cancer in vitro // *Br. J. Cancer.* — 1996. — V. 73, № 3. — P. 281–287.
17. Deckert P.M., Bornmann W. G., Ritter G. et al. Specific tumour localisation of a huA33 antibody — carboxypeptidase A conjugate and activation of methotrexate-phenylalanine // *Int. J. Oncol.* — 2004. — V. 24, № 5. — P. 1289–1295.
18. Wright J. E., Rosowsky A. Synthesis and enzymatic activation of N-[N(alpha)-(4-amino-4-deoxypteroyl)-N(delta)-hemiphthaloyl-L-ornithinyl]-L-phenylalanine, a candidate for antibody-directed enzyme prodrug therapy (ADEPT) // *Bioorg. Med. Chem.* — 2002. — V. 10, № 3. — P. 493–500.
19. Shi P. T., Hao X. K., Chen Y. et al. The solid-phase synthesis of methotrexate-alpha-peptides // *Yao Xue Xue Bao.* — 1997. — V. 32, № 2. — P. 106–109.
20. Всесвітня Організація Здравоохранення // Матеріали єжегодних отчетов. — Санкт-Петербург. — 1981. — 286 с.
21. Bradshaw R. S., et all. // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* — 1969. — V. 63. — P. 1389–1394.
22. Lowry O. H., Rosenbrough N. I., Fan A. Z., Randol R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* — 1951. — V. 193. — P. 265–275.
23. Рокицкий П. Ф. Біологіческая статистика. — Минск: Высш. Школа. — 1967. — 326 с.

І. Л. Вовчук

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина.
Тел: (0482) 68-78-75 e-mail: irvov@mail.ru

АКТИВНОСТЬ КАРБОКСИПЕПТИДАЗЫ А В НОВООБРАЗОВАНИЯХ ЯЄЧНИКА

Резюме

Исследована активность карбоксипептидазы А доброкачественных и злокачественных новообразований яичника. Установлено повышение активности фермента при наличии новообразований. В злокачественных новообразованиях активность фермента обратнопропорциональна степени дифференциации опухолевых клеток.

Ключевые слова: карбоксипептидаза А, яичник, опухоль.

I. L. Vovchuk

Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine.
Tel: (0482) 68-78-75 e-mail: irvov@mail.ru

CARBOXYPEPTIDASE A ACTIVITY IN THE OVARY NEOPLASM

Summary

Carboxypeptidase A activity in the benignant and malignant tumors of ovaries has been researched. It has been found the increasing of the enzyme activity at the presence of neoplasms. In the malignant tumors the activity of the enzyme is inversely proportional to the tumor cell differentiation level.

Keywords: carboxypeptidase A, ovarian, tumor.

УДК 577.152.34:591.04:595.773.4

I. Л. Рижко, асп.

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра генетики та молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна
E-mail: kira_ril@mail.ru

ВПЛИВ *IN VITRO* ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА АКТИВНІСТЬ ТРИПСИНОПОДІБНОГО ФЕРМЕНТУ ЛІЧИНОК *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Досліджували вплив іонів важких металів на частково очищено методами висолювання та іонообмінної хроматографії трипсиноподібну пептидгідролазу личинок дрозофіли. Показано, що на всіх етапах виділення фермент зберігає чутливість до іонів Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} та Cd^{2+} за гідролізу специфічного субстрату бензоїларгінін-п-нітроаніліду. Встановлено, що низькі концентрації солей важких металів на окремих етапах очищення пептидгідролази викликають активуючий ефект, тоді як високі (0,2 мМ та 0,4 мМ) сильно пригнічують анілазну активність досліджуваного ферменту.

Ключові слова: важкі метали, пептидгідролаза, дрозофіла.

Протеолітичні ферменти або пептидгідролази відіграють винятково важливу роль в обміні речовин усіх живих організмів. Протеолітичні ферменти завжди привертали до себе увагу дослідників, що обумовлено не тільки використанням їх як робочого інструменту у білковій хімії, але й у зв'язку з тим, що будучи доступними в очищенному стані у порівняно великих кількостях, дані ферменти самі є зручним об'єктом для різних досліджень, у тому числі для дослідження механізмів регуляції ферментативної активності. Ферменти комах, зокрема протеолітичні, недостатньо вивчені [1, 2].

Мінеральні речовини життєво необхідні для нормальної діяльності будь-якого живого організму. Іони металів часто служать компонентами каталітично активних центрів життєво важливих ферментів або є активаторами цих ферментів. У той же час у визначених концентраціях метали можуть відігравати роль інгібіторів ферментної активності. Інгібування якого-небудь ферменту, що приймає участь у важливому метаболічному процесі, може призупинити весь процес і спричинити глибоку, а іноді і летальну дію на весь організм. Вивчення дії токсичних речовин *in vitro* з метою з'ясувати, чи не є ці речовини інгібіторами ферментів, виявляється корисним при розробці методів захисту від отруйних речовин. Однак навіть якщо можна пов'язати дію токсичної речовини з її впливом на визначений фермент, не завжди легко з'ясувати, як саме виникають ті або інші фізіологічні зміни [3–6].

У попередніх публікаціях ми показали вплив солей металів на окремі фізіологічно-біохімічні показники *Drosophila melanogaster*. В пред-

ставленій роботі нас цікавив токсичний вплив окремих солей важких металів на активність частково очищеної трипсиноподібної пептидгідролази личинок плодової мушки. Цей фермент є головним у процесах травлення дрозофіли, тому вивчали саме його. Трипсиноподібність ензиму доводиться його реакцією зі специфічним субстратом БАПНА, який використовували для визначення наявності ферменту у розчинах білків та впливу солей металів.

Метою представленої роботи було визначення впливу іонів важких металів *in vitro* на функціональну активність трипсиноподібної пептидгідролази личинок *Drosophila melanogaster*. У зв'язку з цим вирішували наступні завдання: 1) виділяли фермент з екстрактів личинок; 2) з'ясовували особливості дії іонів двовалентних металів (Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} та Cd^{2+}) на досліджуваний протеолітичний фермент на різних ступенях його очищення.

Матеріали і методи дослідження

Джерелом досліджуваної пептидгідролази слугували личинки третього віку (72–75 години розвитку) *Drosophila melanogaster* Meigen дикого типу, що розвивалися в стаціонарних умовах при температурі 25 °C на стандартному живильному середовищі [7]. Для одержання синхронізованого матеріалу по 50 самок і самців імаго витримували протягом 4 годин на свіжому живильному середовищі, а після кладки яєць переводили на інший корм.

Виділення ферменту здійснювали за методом, розробленим О. М. Андрієвським [8], з деякими модифікаціями. Для одержання пептидгідролази личинок дрозофіли відмивали від кормової маси водопровідною водою за допомогою дрібнопористого металевого сита і кілька разів обполіскували дистиллятом. Очищених від корму личинок висушували на фільтрувальному папері при кімнатній температурі і зважували. Після цього матеріал поміщали в сталеву склянку гомогенізатора і заливали 10-кратною (маса/обсяг) кількістю охолодженого до -15 °C концентрованого ацетону. Знежирення личинок досягали, гомогенізуючи їх в ацетоні з допомогою ножового мікророздрібнювача при 14 000 об./хв протягом 2 хвилин на холоді. Отриманий гомогенат центрифугували при 12 000 g протягом 15 хв при 4 °C. Білкові осади декантуванням відокремлювали від ацетонової витяжки і висушували близько 15 хвилин у ліофілізаторі при температурі 18 °C.

З ацетонового осаду фермент екстрагували 0,1 M гліцин-NaOH буфером pH 9,0 шляхом ресуспендування осаду у буфері протягом 2 хв у співвідношенні 1:10. При цьому масу ацетонового осаду приймали за вихідну масу личинок. Гомогенат центрифугували при 12 000 g 15 хвилин при 4 °C. Велику частину отриманого супернатанту використовували для висоловання білків, що знаходяться в ньому, і зокрема, трипсиноподібної пептидгідролази.

Висоловання різних білкових компонентів з лужного екстракту провадили шляхом збільшення концентрації сульфату амонію від 0,5 M до 5 M з інтервалом 0,5 M. Наважки сірчанокислого амонію додавали невеликими порціями до екстракту протягом 15 хв при те-

Вплив іонів важких металів на трипсиноподібний фермент личинок дрозофіли

мпературі 20 °С за безперервного перемішування розчину. Білки, що випадають в осад при різних молярних концентраціях солі в розчині, видаляли з екстракту центрифугуванням при 12 000 g протягом 10 хв на холоді. Отримані осади окремо розчиняли в 1 мл 0,1 М гліцин-NaOH буферу pH 9,0. До розчинів висолених білків додавали по 5 мкл толуолу; депротеїнований екстракт, що являв собою насичений розчин сульфату амонію, відкидали.

Наступним етапом виділення й очищення пептидгідролази був іонообмінний хроматографічний поділ однієї з висолених фракцій, що виявляла високий вміст ферменту, на колонці (100 x 28 мм) зі сферичною ДЕАЕ-целюлозою ("Reanal", Угорщина), урівноваженою 0,01 М тріс-ацетатним буфером (pH 7,5). Ферментний розчин вносили в колонку в об'ємі 1 мл. Білки елюювали розчинами хлористого калію у ступінчасто зростаючих концентраціях (від 0,01 М до 1,0 М). Фракції об'ємом по 3 мл збиралі і спектрофотометризували при 280 нм з метою визначення вмісту білка і побудови елюограми. Елюати, що виявляли пептидгідролазну активність, поєднували і піддавали аналізу.

В усіх білкових фракціях після висолювання та іонообмінної хроматографії, як і у вихідному екстракті, визначали концентрацію білка по методу Лоурі і співавт. [9], а також протеолітичну активність з використанням у якості субстрату БАПНА (бензоїларгінін-п-нітроанілід), який застосовували у вигляді 1 mM водного розчину. Метод визначення анілідазної активності пептидгідролази [10, 11, 12] заснований на спектрофотометричній реєстрації (382,5 нм) п-нітроаніліну, що утворюється в результаті реакції розщеплення субстрату трипсиноподібною пептидгідролазою. Питому активність (ПА) ферменту виражали в міліодиницях (мО) у розрахунку на 1 мг білка досліджуваного розчину. За одну міліодиницю приймали кількість ферменту, що розщеплює 1 мкмоль субстрату за 1 хвилину інкубації при 37 °C.

Хлориди Co, Cu, Zn і Cd ("х. ч.") перед використанням розчиняли в 0,1 M гліцин-NaOH буфері pH 9,0 і додавали в інкубаційні середовища до концентрацій 0,04, 0,08, 0,2 і 0,4 mM. До контрольних проб замість розчинів солей металів додавали буфер у еквівалентній кількості.

Вихідні дані обробляли статистично [13], використовуючи комп'ютерну програму "Excel".

Результати досліджень та їх обговорення

В ході очищення пептидгідролази після висолювання білкових компонентів нами були виявлені осади з різним вмістом ферменту. При цьому в усіх отриманих білкових фракціях визначали концентрацію білка та активність ферменту у порівнянні з вихідним екстрактом (табл. 1).

Серед усіх висолів найбільш високі питомі активності пептидгідролази отримали за молярності сірчанокислого амонію 2,5, 3,0 та 3,5 M.

Наступним етапом виділення пептидгідролази була іонообмінна хроматографія одного з фермент-вміщуючих висолів (2,5 M). В процесі розподілу багатокомпонентної суміші протеїнів 2,5 M висолу отри-

мали фракцію досліджуваного ферменту (рис. 1), яка була використана для вивчення дії іонів важких металів на властивості виділеного ферменту.

Таблиця 1
**Вміст білка та пептидгідролазна активність у різних фракціях,
отриманих за висоловання пептидгідролази личинок**

Досліджувана фракція, умови висоловання, $M(NH_4)_2SO_4$	[P], мг/мл	ВА, мО/мл	ПА, мО/мг	Коефіцієнт очищення
Вихідний екстракт	$4,34 \pm 0,01$	$67,0 \pm 0,1$	$15,40 \pm 0,50$	—
0,5	$5,09 \pm 0,06$	$15,0 \pm 1,4$	$2,90 \pm 0,09$	0,2
1,0	$4,51 \pm 0,02$	0	0	0
1,5	$4,38 \pm 0,06$	$11,0 \pm 0,4$	$2,50 \pm 0,01$	0,2
2,0	$3,38 \pm 0,01$	$110,0 \pm 1,4$	$32,50 \pm 1,41$	2,1
2,5	$2,56 \pm 0,11$	$168,0 \pm 0,4$	$65,60 \pm 0,57$	4,3
3,0	$8,22 \pm 0,06$	$858,0 \pm 3,5$	$104,40 \pm 0,14$	6,8
3,5	$4,51 \pm 0,21$	$175,0 \pm 1,3$	$38,80 \pm 0,28$	2,5
4,0	$2,62 \pm 0,36$	$19,4 \pm 0,3$	$7,40 \pm 0,05$	0,5
4,5	$1,18 \pm 0,13$	$2,2 \pm 0,3$	$1,90 \pm 0,11$	0,1
5,0	$0,56 \pm 0,06$	0	0	0

Примітка: [P] — вміст білка в 1 мл розчину; ВА — відносна активність ферменту; ПА — питома активність ферменту.

Активність пептидгідролази в нормальнích умовах, а також її зміну за впливу солей металів вивчали на етапі вихідного екстракту, основних фракцій висоловання (починаючи з 2 М висолу і закінчуючи 3,5 М) та на рівні отриманого частково очищеного ферменту. Необхідно відзначити, що тенденція зміни пептидгідролазної активності при використанні визначених солей важких металів зберігалася для всіх досліджуваних фермент-вміщуючих розчинів, тому нами детально представлені дані, отримані лише з очищеним ферментом. Якщо за низьких концентрацій солей деяких важких металів іноді спостерігалося підвищення протеолітичної активності, то збільшення вмісту солі у середовищі майже завжди інгібувало активність ферменту. Достовірне підвищення активності трипсиноподібної пептидгідролази личинок 0,08 та 0,2 mM концентраціями солі спостерігалося лише при дослідженні фракції 2,5 M висолу при додаванні солей цинку і кадмію.

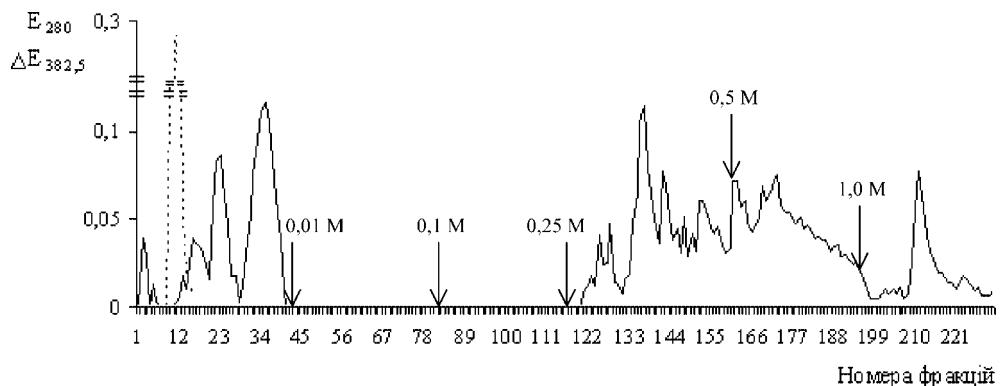


Рис. 1. Елютограма іонообмінної хроматографії на колонці зі сферичною ДЕАЕ-целюлозою фракції трипсиноподібної пептидгідролази, що висолюється 2,5 М сірчанокислим амонієм: Вертикальними стрілками зазначені моменти зміни градієнту концентрації KCl. — відносний вміст білка (оптична щільність (E) при 280 нм, умовні одиниці), — — — БАПНА-азна активність (оптична щільність (ΔE) при 382,5 нм, умовні одиниці)

Як видно з таблиці 2, проведені виміри пептидгідролазної активності виявили наступні закономірності: мінімальна концентрація CoCl_2 (0,04 mM) практично не впливалася на ферментативну активність; з підвищеннем концентрації кобальту відзначалося поступове зниження активності; при концентрації 0,4 mM активність ферменту була нижче контрольної приблизно в 2 рази.

Більш негативний вплив на досліджувану пептидгідролазу виявили іони міді. Навіть за невисоких концентрацій CuCl_2 відзначалося незначне інгібування ферментативної активності; з підвищеннем вмісту цієї солі збільшувалося пригнічення гідролізу БАПНА. При 0,2 mM концентрації солі в інкубаційному середовищі активність була нижча контрольної в 2 рази, тоді як при 0,4 mM хлориду міді відзначалося майже повне інгібування.

Для хлориду Zn відзначені наступні особливості впливу на активність ферменту: незважаючи на те, що в порівнянні з контролем активність пептидгідролази була дещо нижчою, концентрація 0,08 mM виявила значний активуючий ефект у порівнянні з концентрацією 0,04 mM. Концентрація 0,4 mM майже на 90 % інгібувала фермент. Це вказує на те, що за певних концентрацій іони Zn^{2+} можуть сприяти ферментативному розчлененню синтетичного субстрату.

БАПНА. В той же час суттєве підвищення концентрації хлориду цинку викликає інгібуючий ефект на досліджувану пептидгідролазу.

За наявності мінімальної концентрації хлориду кадмію ферментативна активність знижувалася приблизно на 25 % у порівнянні з контролем.

Концентрація 0,08 mM солі кадмію виявляла більш сильний вплив, ніж концентрація 0,2 mM; підвищення вмісту $CdCl_2$ до 0,4 mM пригнічувало активність пептидгідролази на 40 %. Такі зміни в прояві активності ферменту за умов дії іонів кадмію очевидно пов'язані

Таблиця 2
Вплив іонів важких металів на активність пептидгідролази личинок на етапах її виділення

Варіанти		Вихідний екстракт	Концентрація сірчанокислого амонію				Хроматографічна фракція
			2,0 М	2,5 М	3,0 М	3,5 М	
Контроль		15,4 ± 0,5	32,5 ± 1,4	65,6 ± 0,6	104,4 ± 0,1	38,8 ± 0,3	115,9 ± 1,4
CoCl_2 , mM	0,04	18,8 ± 4,4*	29,3 ± 1,8*	69,1 ± 0,4*	114,9 ± 1,7*	39,4 ± 2,4	103,4 ± 0,1*
	0,08	16,1 ± 2,5	24,9 ± 0,7*	72,1 ± 0,1*	114,6 ± 0,4*	36,5 ± 0,3*	96,6 ± 2,0*
	0,2	13,7 ± 1,5*	17,9 ± 0,1*	59,9 ± 2,0*	104,0 ± 1,7	33,9 ± 1,1*	93,2 ± 0,7*
	0,4	6,8 ± 0,7*	13,9 ± 4,9*	36,7 ± 0,4*	82,1 ± 3,5*	18,8 ± 4,0*	55,7 ± 0,6*
CuCl_2 , mM	0,04	17,1 ± 4,0*	25,7 ± 0,4*	77,5 ± 3,1*	112,8 ± 0,3*	33,4 ± 0,1*	84,1 ± 0,3*
	0,08	15,4 ± 2,4	24,9 ± 0,3*	80,7 ± 0,7*	108,2 ± 1,1	31,3 ± 0,7*	81,8 ± 0,4*
	0,2	5,5 ± 5,6*	3,6 ± 0,1*	44,9 ± 0,1*	89,6 ± 2,0*	11,2 ± 0,3*	55,7 ± 0,1*
	0,4	0	0	33,2 ± 0,1*	2,4 ± 0,3*	0	5,7 ± 1,3*
ZnCl_2 , mM	0,04	10,1 ± 1,1*	22,5 ± 0,7*	99,6 ± 1,8*	106,4 ± 2,7	34,0 ± 0,7*	73,7 ± 0,6*
	0,08	11,1 ± 0,8*	22,8 ± 0,1*	113,3 ± 1,0*	99,4 ± 0,1	32,5 ± 2,1*	100,0 ± 2,4*
	0,2	3,6 ± 1,7*	8,6 ± 0,6*	68,4 ± 0,4	72,9 ± 1,0*	11,4 ± 0,1*	53,4 ± 2,1*
	0,4	0,1 ± 0,2*	3,6 ± 0,4*	54,7 ± 0,3*	27,3 ± 0,1*	5,5 ± 1,1*	13,6 ± 0,1*
CdCl_2 , mM	0,04	8,3 ± 1,3*	17,9 ± 1,3*	76,2 ± 0,1*	100,7 ± 2,0	29,3 ± 1,3*	87,5 ± 2,3*
	0,08	7,8 ± 1,2*	16,4 ± 0,1*	76,2 ± 0,3*	107,2 ± 0,1	24,4 ± 1,0*	72,7 ± 0,6*
	0,2	7,3 ± 3,2*	15,8 ± 0,1*	142,6 ± 0,6*	92,7 ± 0,6*	25,1 ± 0,1*	82,9 ± 0,3*
	0,4	4,3 ± 2,4*	14,2 ± 1,1*	62,5 ± 0,9	81,2 ± 0,4*	14,2 ± 0,1*	61,4 ± 0,3*

Примітка: дані відображають питому активність пептидгідролази. * — відмінності значень дослідних варіантів у порівнянні з відповідним контрольним варіантом достовірні при $p < 0,05$.

з впливом його на конформаційний стан пептидгідролази, з одного боку, та з безпосередньою модифікацією активного центру ферменту — з іншого.

Оскільки у всіх випадках нами були застосовані виключно хлориди важких металів, можна вважати доведеним дифференційний вплив саме іонів Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} та Cd^{2+} , а не іонів хлору, на прояв *in vitro* БАПНА-азної активності трипсиноподібної пептидгідролази личинок дрозофіли, що в цілому корелює з ефектами дії цих іонів на протеолітичну систему травлення на рівні живого організму [14].

Висновки

1. Іони важких металів (Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} та Cd^{2+}) спричиняють як активуючий, так і інгібуючий вплив на трипсиноподібну пептидгідролазу личинок дрозофіли на певних етапах її виділення та очищення.

2. Найбільший інгібуючий вплив на БАПНА-азну активність ферменту справляють іони міді при концентрації CuCl_2 0,4 мМ.

3. Достовірне підвищення протеолітичної активності спостерігається лише при використанні ферменту, отриманого висолюванням 2,5 М $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, за умови додавання солей цинку і кадмію в концентраціях 0,08 та 0,2 мМ відповідно.

Література

1. Мосолов В. В. Протеолитические ферменты. — М.: Наука, 1971. — 414 с.
2. Ермолаев М. В., Ильичева Л. П. Биологическая химия. — М.: Медицина, 1989. — 320 с.
3. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. — Москва: Мир, 1966. — 816 с.
4. Бигалиев А. Б. Генетический эффект солей тяжёлых металлов как загрязнителей окружающей среды // Успехи современной генетики. — 1982. — Вып. 10. — С. 104–114.
5. Мельникова Н. М., Деркач Е. А. Вікові особливості кумуляції кадмію в органах токсико-ваних щурів і зміни показників кислотно-лужного стану крові за різних умов антиоксидантного захисту організму // Укр. біохім. журн. — 2004. — Т. 76, № 6. — С. 95–99.
6. Колодзейская М. В., Пилявская А. С. Пептидазы. — К.: Наукова думка, 1982. — 176 с.
7. Медведев Н. Н. Практическая генетика. — М.: Наука, 1968. — 294 с.
8. Андриевский А. М. Метод получения частично очищенной щелочной пептидгидролазы из личинок *Drosophila melanogaster* // Укр. біохім. журн. — 1985. — Т. 57, № 4. — С. 54–59.
9. Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — V. 193, N 1. — P. 265–275.
10. Erlanger B., Kokosky N., Cohen W. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin // Arch. Biochem. and Biophys. — 1961. — V. 95, N 2. — P. 271–278.
11. Андриевский А. М., Катаненко С. В., Тоцкий В. Н. Онтогенетические особенности пептидгидролазной активности экстрактов тканей *Drosophila melanogaster* // Укр. біохім. журн. — 1982. — Т. 54, N 5. — С. 519–524.
12. Лизосомы. Методы исследования / Под ред. Д. Дингла. — М.: Мир, 1980. — 342 с.
13. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — Минск: Вышэйшая школа, 1973. — 320 с.
14. Андрієвський О. М., Рижко І. Л., Радіонов О. О. Вплив іонів металів на рівень протеолітичної активності травної системи дрозофіли в онтогенезі // Вісник ОНУ — Біологія, 2002. — Т. 7. — Вип. 1. — С. 15–21.

И. Л. Рижко

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина
E-mail: kira_ril@mail.ru

ВЛИЯНИЕ IN VITRO ИОНОВ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА АКТИВНОСТЬ ТРИПСИНОПОДОБНОГО ФЕРМЕНТА ЛИЧИНОК *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Резюме

Исследовали влияние ионов тяжёлых металлов на частично очищенную методами высаливания и ионообменной хроматографии трипсиноподобную пептидгидролазу личинок дрозофилы. Показано, что на всех этапах выделения фермент сохраняет чувствительность к ионам Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} и Cd^{2+} при гидролизе специфического субстрата бензоиларгинин-*p*-нитроанилида. Установлено, что низкие концентрации солей тяжёлых металлов на отдельных этапах очистки пептидгидролазы вызывают активирующий эффект, тогда как высокие ($0,2 \text{ mM}$ и $0,4 \text{ mM}$) сильно угнетают анилидиназную активность изучаемого фермента.

Ключевые слова: тяжёлые металлы, пептидгидролаза, дрозофила.

I. L. Ryzhko

Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine
E-mail: kira_ril@mail.ru

THE HEAVY METALS IONS INFLUENCE IN VITRO ON *DROSOPHILA MELANOGASTER* LARVAE TRYPSINLIKES ENZYME ACTIVITY

Summary

The influence of the heavy metals ions on partly refined by methods of salting-out and ion-exchange chromatography trypsinlike peptide hydrolyse of drosophila larvae has been researched. It is shown that on all the stages of separation the enzyme saves sensitivity to Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} and Cd^{2+} ions at specific benzoyl arginine-*p*-nitroanilide substance hydrolysis. It is established that low concentrations of the heavy metals salts on the separate stage of peptide hydrolyses purification causes the activating effect whereas high ($0,2 \text{ mM}$ and $0,4 \text{ mM}$) — vastly oppress the anilide activity of the studied enzyme.

Keywords: heavy metals, peptide hydrolyse, drosophila.

УДК 581.19:577.156

**О. В. Тихонова¹, асп., О. О. Молодченкова², канд. біол. наук,
В. Г. Адамовська², канд. с/х. наук, С. А. Петров¹, д-р біол. наук, проф.**

¹ Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна. Тел.: (0482) 687875

² Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насіннєзнавства
та сортовивчення Української академії аграрних наук,
лабораторія біохімії та фізіології рослин,
Овідіопольська дорога, 3, Одеса, 65036, Україна. Тел.: 39-54-73

МЕТАБОЛІЗМ ВУГЛЕВОДІВ У ЗЕРНІ КУКУРУДЗИ ПРИ ЙОГО ПРОРОСТАННІ ЗА УМОВ ВОДЯНОГО ДЕФІЦИТУ

Досліджено зміни амілолітичної активності та вмісту редукуючих цукрів у зерні кукурудзи (*Zea mays L.*) при проростанні за умов водяного дефіциту (ВД). Показано, що у зерні стійкої лінії зміни активності амілази відбуваються раніше, ніж у чутливої лінії, що пояснюється її пристосувально-захисними механізмами. Зміни вмісту моно- та дисахаридів у стійкої лінії віддзеркалюють її адаптивні властивості.

Ключові слова: кукурудза, проростання, амілаза, моносахариди, дисахариди, водяний дефіцит.

Проростання насіння — один із важливих етапів онтогенезу вищих рослин, який характеризується відновленням після спокою метаболічної активності та ростових процесів у органах зародка і потребує високого рівня водозабезпечення [1].

Метаболічні зміни за умов водяного дефіциту (ВД) на перших стадіях проростання регулюються пристосувально-захисними механізмами і потребують підвищених витрат енергії [2, 3]. Активація гідролітичних ферментів, в т. ч. амілази, призводить до накопичення розчинних вуглеводів, що є субстратами для аеробного гліколізу та дихання — процесів, що забезпечують тканини зародка необхідною енергією [4].

Згідно з літературними даними [5, 6, 7] характер біохімічних реакцій у відмінних за стійкістю генотипів дуже подібний, проте відмінності можуть полягати у ступені відхилень метаболізму від норми, у швидкості та глибині перебудови його в умовах стресу.

Мета даного дослідження — з'ясувати зміни амілолітичної активності та вмісту редукуючих цукрів в процесі проростання зернівок кукурудзи за умов водяного стресу.

Матеріали і методи

Дослідження провадили на насінні ліній кукурудзи (*Zea mays L.*), які відрізнялися за ознакою посухостійкості (стійка лінія — Од329зМ, чутлива лінія — См7SL зМ).

У дослідах використовували неушкоджені зернівки кукурудзи у стані спокою та після 12-годинного набубнявіння (умовно 0 год. пропошування), які у подальшому пророщували на фільтрувальному папері у термостаті при температурі 25 °C. Для відтворення водяного дефіциту набубнявілі зернівки розкладали на фільтрувальному папері, зволоженому 10% ПЕГ-12000 [8, 9]. Зернівки контрольного варіанту впродовж досліду пророщували на фільтрувальному папері, зволоженому дистильованою водою. По закінченні експозиції відпрепаровані ендосперм та зародок разом із щитком заморожували при -70 °C.

Аміазну активність визначали за методом Вольгемута [10]. Питому активність обчислювали в нкат/мг білка. Вміст білка визначали за методом Lowry [11].

Вміст редукуючих цукрів визначали за методом Калініна Ф. Л. і Ястремович Н. І. [12] та перераховували у відсотках від сухої речовини.

Статистичну значимість відмінностей між вибірками визначали за допомогою критерія Ст'юдента [13].

Результати та їх обговорення

При дослідженні аміазної активності виявилося, що в ендоспермі набубнявілого насіння чутливої лінії відбувається 30-кратне підвищення цієї активності у порівнянні з сухим насінням (табл. 1). У стійкої лінії її підвищення досягає 60-ти разів (табл. 2). Після початку дії ВД аміазна активність в ендоспермі чутливої лінії підвищується ще в 2,5 рази, а у стійкої — в 4,5 рази.

Таблиця 1

Аміазна активність у зерні чутливої лінії кукурудзи СМ7SLзМ при його проростанні за умов водяного дефіциту, нкат/мг білка

Умови досліду	Ендосперм, час пророщування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	2,42 ± 0,07	74,81 ± 2,24	186,0 ± 5,6	365,2 ± 11,0	676,0 ± 20,3	267,0 ± 8,0	149,8 ± 4,5
			217,5 ± 6,5*	312,2 ± 9,4*	470,5 ± 14,1*	480,6 ± 14,4*	246,4 ± 7,4*
Зародок + щиток, час пророщування зерна							
Контроль	0,14 ±0,01	0,16 ±0,01	0,22 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,32 ± 0,01	6,36 ± 0,19	12,07 ± 0,36
			0,21 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,25 ± 0,01	1,89 ± 0,01*	11,61 ± 0,35

Примітка: * — p < 0,05

У подальшому зростання активності продовжується у обох ліній до 7,5 години проростання зерна, після чого швидко знижується. У подальші строки проростання зерна, за раніше отриманими даними [14], аміазна активність продовжує спадати і на 3-ю добу досягає рівня активності в набубнявіному насінні.

Таблиця 2

Амілазна активність у зерні стійкої лінії кукурудзи Од329зМ при його проростанні за умов водяного дефіциту, нкат/мг білка

Умови досліду	Ендосперм, час пророщування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	1,06 ± 0,03	64,07 ± 1,92	295,7 ± 8,9	272,5 ± 8,2	466,0 ± 14,0	339,3 ± 10,2	153,9 ± 4,6
			161,2 ± 4,8*	414,5 ± 12,4*	697,1 ± 20,9*	302,4 ± 9,1*	189,3 ± 5,7*
	Зародок + щиток, час пророщування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	0,08 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,31 ± 0,01	13,44 ± 0,40	13,62 ± 0,41
			0,28 ± 0,01*	0,33 ± 0,01*	0,26 ± 0,01*	3,00 ± 0,09*	8,60 ± 0,26*

Примітка: * — p < 0,05

Рівень амілазної активності в решті зернівки контрольного варіанту був незначним відносно ендосперму, проте після 24-х годин проростання зерна спостерігали значне її збільшення в обох ліній (за рахунок щитка), що припадає на початок росту розтягненням зародка.

За умов водяного дефіциту загальна картина змін амілолітичної активності в обох ліній була дуже подібною. Проте у стійкої лінії спостерігали підвищення активності амілази у зародку вже на другу годину, тоді як у чутливої лінії цього підвищення не відбувалося, і навіть спостерігали зниження ферментативної активності у термін 7,5 год. В ендоспермі зміни амілазної активності майже повторюються: у стійкої лінії спостерігали її підвищення у термін 7,5 год., в той час як у чутливої лінії дослідний варіант перевищує контрольний лише на 24 годину пророщування зерна і стає нижчим за контрольний рівень на 48 годину. Таку затримку в розвитку амілолітичної реакції можна пояснити впливом стресового чинника на насіння.

Щодо загальних закономірностей динаміки вмісту цукрів у проростаючому насінні, то було встановлено, що за ВД спочатку спостерігається зниження вмісту моносахаридів (табл. 3, 4) у частині зернівки, позначеній нами як (зародок + щиток), що може бути пов'язано зі збільшенням інтенсивності дихання на початку дії ВД. Одночасно спостерігали підвищений вміст моносахаридів в ендоспермі.

Збереження низького рівня моносахаридів у зародку та щитку стійкої лінії на другу годину досліду можна пояснити інтенсивним використанням цих сполук у метаболізмі зародка. Водночас частина моносахаридів могла переходити у склад дисахаридів, що підтверджується зростанням вмісту останніх (табл. 6).

Поступове зменшення вмісту моносахаридів в ендоспермі (у стійкої лінії на 7,5 годину проростання, а у чутливої — на 24 годину) свідчить про їх транспорт із ендосперму до зародка.

У термін 24 год. дослідний рівень моно- та дисахаридів у зернівці стійкої лінії перевищує контрольний, на відміну від чутливої лінії, де спостерігали зворотну реакцію.

Таблиця 3

Вміст моносахаридів у зерні чутливої лінії кукурудзи СМ7SLзМ при його проростанні за умов водяного дефіциту, % від сухої речовини

Умови досліду	Ендосперм, час пророщування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	0,011 ±0,001	0,0013 ±0,0001	0,0013 ±0,0001	0,014 ±0,001	0,026 ±0,001	0,242 ±0,013	1,94 ±0,09
			0,0092 ±0,0005*	0,026 ±0,001*	0,027 ±0,001	0,029 ±0,001*	0,40 ±0,02*
В.Д.	0,055 ±0,002	0,091 ±0,004	Зародок + щиток, час пророщування зерна				
			0,1054 ±0,0050	0,060 ±0,003	0,054 ±0,002	0,239 ±0,0122	0,85 ±0,04
В.Д.	0,0569 ±0,0020*	0,050 ±0,002*	0,0569 ±0,0020*	0,050 ±0,002*	0,062 ±0,003	0,090 ±0,004*	0,26 ±0,01*

Примітка: * — p < 0,05

Таблиця 4

Вміст моносахаридів у зерні стійкої лінії кукурудзи Од329зМ при його проростанні за умов водяного дефіциту, % від сухої речовини

Умови досліду	Ендосперм, час пророщування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	0,029 ±0,001	0,0052 ±0,0002	0,008 ±0,001	0,029 ±0,001	0,020 ±0,001	0,124 ±0,006	3,13 ±0,16
			0,043 ±0,002*	0,035 ±0,002*	0,013 ±0,001*	0,324 ±0,016*	0,15 ±0,01*
В.Д.	0,065 ±0,003	0,057 ±0,002	Зародок + щиток, час пророщування зерна				
			0,020 ±0,001	0,080 ±0,004	0,125 ±0,006	0,099 ±0,005	1,55 ±0,08
В.Д.	0,003 ±0,0002*	0,048 ±0,002*	0,003 ±0,0002*	0,048 ±0,002*	0,118 ±0,006	0,175 ±0,009*	0,54 ±0,03*

Примітка: * — p < 0,05

Внаслідок тривалої дії ВД спостерігали зменшення кількості моносахаридів в зернівці (табл. 3, 4), та дисахаридів (табл. 5, 6) в ендоспермі досліджуваних ліній. Наприкінці досліду вміст дисахаридів в сукупності зародок + щиток дещо перевищував контрольний рівень цих сполук в зерні обох ліній (табл. 5, 6).

Як вже зазначалося [14], ріст концентрації цукрів, а саме дисахаридів як менш метаболічно-активних речовин, може бути захисною реакцією рослин на водяний дефіцит як стресовий чинник [15, 16].

Метаболізм вуглеводів у зерні кукурудзи

Таблиця 5

Вміст дисахаридів у зерні чутливої лінії кукурудзи СМ7SL3M при його проростанні за умов водяного дефіциту, % від сухої речовини

Умови досліду	Ендосперм, час пророшування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	0,068 ±0,003	0,137 ±0,007	0,143 ± 0,007	0,136 ± 0,007	0,128 ± 0,006	0,27 ± 0,01	0,61 ± 0,03
В.Д.			0,131 ± 0,007	0,126 ± 0,006	0,199 ± 0,010*	0,13 ± 0,01*	0,39 ± 0,02*
	Зародок + щиток, час пророшування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	2,034 ±0,102	2,387 ±0,119	1,862 ± 0,095	1,753 ± 0,088	2,504 ± 0,125	1,18 ± 0,06	2,16 ± 0,11
В.Д.			1,851 ± 0,093	1,437 ± 0,072*	2,190 ± 0,110*	0,88 ± 0,04*	2,41 ± 0,13

Примітка: * — p < 0,05

Таблиця 6

Вміст дисахаридів в зерні стійкої лінії кукурудзи Од3293M при його проростанні за умов водяного дефіциту, % від сухої речовини

Умови досліду	Ендосперм, час пророшування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	0,030 ±0,002	0,192 ±0,010	0,133 ± 0,007	0,133 ± 0,007	0,217 ± 0,011	0,26 ± 0,01	1,03 ± 0,05
В.Д.			0,167 ± 0,01*	0,128 ± 0,007	0,175 ± 0,010*	0,31 ± 0,02*	0,61 ± 0,03*
	Зародок + щиток, час пророшування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	2,033 ±0,103	2,289 ±0,120	1,082 ± 0,055	1,496 ± 0,075	2,369 ± 0,125	1,05 ± 0,05	1,92 ± 0,10
В.Д.			2,048 ± 0,10*	1,964 ± 0,10*	2,101 ± 0,110	1,73 ± 0,09*	2,24 ± 0,11

Примітка: * — p < 0,05

Висновки

1. У стійкої лінії кукурудзи зміни аміазної активності в проростаючому зерні відбуваються раніше, ніж у чутливої лінії, що збільшує пристосувально-захисний потенціал стійких рослин.
2. В насінні стійкої лінії, яке проростає в умовах низької вологості, істотно зростає вміст вільних моно- та дисахаридів, що є захисною реакцією за умов водяного дефіциту.

Література

1. Бабенко Л. М., Мартин Г. И., Мусатенко Л. И. и др. Структурно-функциональні особливості проростання насіння квасолі // Физиология и биохимия культ. Растений. — 2003. — 53, № 2. — С. 138–143.
2. Моргун В. В., Григорюк І. П. Наукові напрямки досліджень в галузі фізіології водного режиму та посухостійкості рослин в Україні // Актуальні проблеми фізіології водного режиму та посухостійкості рослин: Зб. наук. пр. — К.: Ін-т фізіології рослин і генетики. — 1997. — С. 12–20.
3. Тарчевский И. А. Сигнальные системы клеток растений. — М.: Наука. — 2002. — 294 с.
4. Dunn G. A. Model for Starch Breakdown in Higher Plants // Phytochemistry. — 1974. — V. 13. — P. 1341–1346.
5. Генетические ресурсы и селекция на устойчивость к болезням и абиотическим факторам среды. Материалы IX конгресса ЕУКАРПИА (Ленинград, 16–20 сентября, 1980г). — Ленинград — 1981. — С. 13.
6. Мусієнко М. М. Фізіологія рослин: Підручник. — К.: Фітоцентр, 2001. — С. 337–339.
7. Генкель П. А. О состоянии и направлении работ по физиологии жаро- и засухоустойчивости растений. — В кн.: Проблемы засухоустойчивости растений. — М. — 1978.
8. Ли М., Ван Г., Лин Ц. Кальций способствует адаптации культивируемых клеток солодки к водному стрессу, индуцированному полиэтиленгликолем // Физиология растений. — 2004. — Т. 51, № 4. — С. 575–581.
9. Handa A. K., Bressan R. A., Handa S. et al. Clonal Variation for Tolerans to Polyethylene Glycol-Induced Water Stress in Cultured Tomato Cells // Plant Physiol. — 1983. — V. 72. — P. 645–653.
10. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П. и др. Методы биохимического исследования растений / Под ред. А. И. Ермакова. — Л.: Агропромиздат. — 1987. — 430 с., ил. — С. 54–57.
11. Lowry O. H., Rosenbrough N. I., Fan A. Z., Randol R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — V. 193. — P. 265–275.
12. Калинин Ф. Л., Ястремович Н. И. Колориметрическое определение моно- и дисахаролов, белкового и небелкового азота, фосфора и калия в одной навеске растительного материала. Вопросы обмена веществ сельскохозяйственных растений. — Киев.: Изд-во акад. Наук УССР. — 1953. — С. 105–110.
13. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — Минск: Вышш. Школа. — 1967. — 326 с.
14. Тихонова О. В., Молодченкова О. О., Адамовська В. Г., Петров С. А. Метаболізм вуглеводів у тканинах паростків кукурудзи під впливом водяного та теплового стрес-факторів // Вістник ОНУ. — 2005. — 1, № 10. — С. 33–38.
15. Франко О. Л., Мело Ф. Р. Осмопротекторы: ответ растений на осмотический стресс // Физиология растений. — 2000. — Т. 47, № 1. — С. 152–159.
16. Buleon A., Colonna P., Planchot V., Ball S. Starch granules: structure and biosynthesis // Int. J. Biol. Macromol. — 1998. — V. 23, № 1. — P. 85–112.

О. В. Тихонова¹, О. О. Молодченкова², В. Г. Адамовская²,
С. А. Петров¹

¹ Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра биохимии,
ул. Дворянская 2, Одесса, 65026, Украина. Тел.: (0482) 687875

² Селекционно-генетический институт — Национальний центр семеноведения
и сортознания Української академії аграрних наук, лаборатория биохими
и физиологии растений,
Овидиопольская дорога 3, Одесса, 65036, Украина. Тел.: 39-54-73

МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕВОДОВ В ЗЕРНЕ КУКУРУЗЫ ПРИ ЕГО ПРОРОСТАНИИ В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО ДЕФИЦИТА

Резюме

Исследованы изменения в амилолитической активности и содержании редуцирующих сахаров в зерне кукурузы (*Zea mays L.*) при проростании в условиях водного дефицита. Показано, что в зерне устойчивой линии изменения в активности амилазы происходят раньше, что объясняется ее приспособительно-защитными механизмами. Изменения содержания моно- и дисахаров в тканях устойчивой линии отражают ее адаптивные свойства.

Ключевые слова: кукуруза, прорастание, амилаза, моносахарины, дисахарины, водный дефицит.

**¹ O. V. Tichonova, ² O. O. Molodchencova, ² V. G. Adamovskaya, ¹
S. A. Petrov**

¹ Odessa National I.I. Mechnicov University, Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine. Tel.: (0482) 68-78-75

² Plant Breeding and Genetics Institute - National Center of Seed and Cultivar
Investigation Ukrainian Academy of Agricultural Sciences, Laboratory of Plant
Biochemistry and Physiology,
Ovidiopolska road, 3, Odessa, 65036, Ukraine. Tel.: 39-54-73

CARBOHYDRATE METABOLISM IN MAIZE CORN SEED TISSUES DURING GERMINATION UNDER THE INFLUENCE OF WATER DEFICIENCY

Summary

The changes in amylase activity and carbohydrates content in corn seed under the influence of water deficiency was studied. It was shown that in corn seed of resistant line the changes of amylase activity happened earlier. The content changes of saccharides in the tissues of resistant line tell in favour of the adaptive character of corn seed reaction under the water deficiency action.

Keywords: *Zea mays L.*, germination, amylase, monosaccharides, disaccharides, water deficiency.

УДК 577.15

С. С. Чернадчук, співроб. каф. біохімії, **І. Л. Вовчук**, канд. біол. наук,
докторант каф. біохімії

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна.
Тел: (0482) 68-78-75 e-mail: chuk32@yandex.ru, irvov@mail.ru

АКТИВНІСТЬ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ МАТРИКСУ (МПМ-2) У ТКАНИНАХ НОВОУТВОРЕНЬ ЕНДОМЕТРІЯ ТА МІОМЕТРІЯ

Досліджена активність металопротеїнази матриксу (МПМ-2) у тканинах доброкісних та злоякісних новоутворень ендометрія та міометрія. Встановлено, що у тканинах доброкісних новоутворень активність МПМ-2 змінюється в залежності від проліферуючого потенціалу пухлинних клітин міометрія та ендометрія. Активність МПМ-2 в тканині злоякісної епітеліальної пухлини ендометрія — аденокарциномі — знижується зі ступенем диференціації пухлинних клітин.

Ключові слова: металопротеїнази, ендометрій, міометрій, аденокарцинома, пухлина.

В останні роки протеолітичні ферменти, які відносяться до класу металопротеїназ, розглядаються як інструмент деструктивного, обмеженого протеолізу екстрацелюлярного матриксу, який виконує роль бар'єру для росповсюдження пухлинних клітин.

Металопротеїнази позаклітинного матриксу гідролізують широкий спектр субстратів, що включають колагени, глікопротеїни, протеоглікани та денатуризований колаген (желатін), які входять у склад базальної мембрани.

Участь металопротеїназ матриксу (МПМ) в пухлинній трансформації, а також в процесах інвазії та метастазування добре доведена *in vitro* та *in vivo*. Встановлено, що експресія металопротеїназ матриксу корелює з деструктивними змінами в матриксі та з туморогеним фенотипом клітин, а також залежить від походження пухлини та тканини. Металопротеїнази матриксу можуть приймати участь в процесі канцерогенезу, впливаючи на різноманітні шляхи передачі сигналу в клітині, на основні компоненти міжклітинного матриксу, а також синтезуючи біологічноактивні молекули [1].

Про участь металопротеїназ у метастатичному процесі існують суміжні дані. Так, D. Train et al [2] встановили залежність між секрецією колагенази типу I (МПМ-1) клітинами пухлини молочної залози мишій та розвитком метастазів у легенях. Існують дані, які вказують про взаємозв'язок між ступенем інвазії ракових клітин тканини сечового міхура людини та активністю колагенази типу I (МПМ-1) в екстрактах пухлини [3]. Проте встановити залежність між

Активність металопротеїнази матриксу (МПМ-2) у тканинах

рівнем активності колагеназ та метастатичним потенціалом клітин пухлини вдається не завжди [4]. Тому подальші дослідження залежності метастатичного потенціалу рапових клітин від активності різних протеїназ є актуальними і дуже важливими.

Зв'язок металопротеїнази-2 (желатиназа А, МПМ-2, КФ 3.4.24.24) з інвазією пухлинних клітин представляє значний інтерес, оскільки активність даного ферменту в пухлинних клітинах висока і цей фермент лізирує базальну мембрну. Даний фермент виявлено у клітинах меланоми В16, де його активність корелює з метастатичним потенціалом клітин [5]. Встановлено, що металопротеїназа-2 є хемоатрактантом для клітин карциноми Льюїса і фібросаркоми Т-24 [6]. Вона також збільшує міграцію клітин чешуйчатої карциноми SCC-4 в судинну систему.

Мета цієї роботи — дослідити активність металопротеїнази-2 (МПМ-2) в тканинах новоутворень ендометрія та міометрія з урахуванням вікових змін жіночого організму.

Матеріали і методи

Досліджували гомогенати неураженої тканини ендометрія, міометрія та зразки тканин доброкісних та злоякісних новоутворень ендометрія та міометрія, вилучених операційним шляхом у жінок, які не отримували медикаментозного доопераційного лікування.

Тканини гомогенізували в 0,9 % розчині NaCl (у співвідношенні 1:10) і центрифугували при 12000 обертів / хв при + 4 °C протягом 45 хвилин.

Патоморфологічні діагнози були верифіковані за міжнародною класифікацією ВОЗ із визначенням морфологічного стану і ступеня диференціації трансформованих клітин пухлинної тканини [7].

У супернатанті зразків тканин ендометрія та міометрія визначали активність металопротеїнази-2 по гідролізу субстрату — желатини (pН 7,4) [8] та вміст білка — за методом Lowry [9].

Оптичну щільність визначали при довжині хвилі 570 нм, відносну активність ферментів вирахали в ммолях глі/мг сирої маси тканини за хв. інкубації при 37 °C, питому активність — в ммолях глі/г білка.

Статистичну значимість відмінностей між вибірками визначали за допомогою критерія Ст'юдента [10].

Результати та їх обговорення

За дослідження активності МПМ-2 в тканинах доброкісних та злоякісних новоутворень ендометрія та міометрія онтогенетичні властивості цього показника проявилися достатньо чітко (рис. 1).

Так, при дослідженні жінок кожної вікової групи, яка включала 25 осіб, активність ферменту в тканинах ендометрія та міометрія без новоутворень була незначною і практично не змінювалась у жінок із віком. За наявності як доброкісних, так і злоякісних новоутворень ендометрія та міометрія активність МПМ-2 була в середньому в 7,1–

13,3 рази вищою у порівнянні з показниками ендометрія та міометрія без новоутворень. Встановлено, що в межах однієї вікової групи активність ферменту вірогідно вища за наявності доброкісного новоутворення в ендометрії та міометрії, ніж у випадку злоякісного процесу. Максимальна активність ферменту спостерігалася у жінок 51–70 років в зразках тканин з доброкісними новоутвореннями.

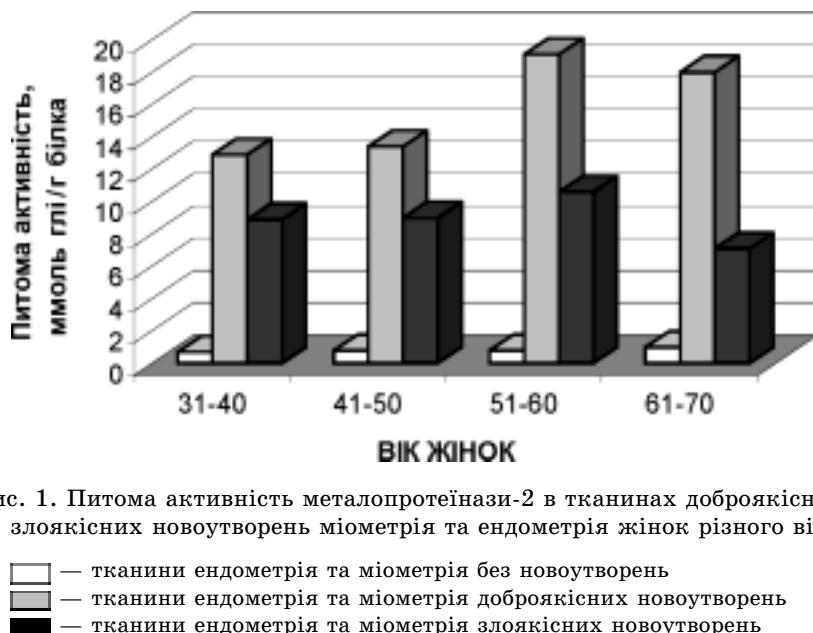


Рис. 1. Пітому активність металопротеїнази-2 в тканинах доброкісних та злоякісних новоутворень міометрія та ендометрія жінок різного віку

- — тканини ендометрія та міометрія без новоутворень
- — тканини ендометрія та міометрія доброкісних новоутворень
- — тканини ендометрія та міометрія злоякісних новоутворень

Серед найбільш розповсюджених доброкісних патологій міометрія максимальне підвищення активності ферменту (в 16,5 рази, у порівнянні з тканиною міометрія, не ураженого пухлиною) було встановлено в тканині проліферуючої форми фібролейоміоми (табл. 1).

У зразках доброкісних новоутворень ендометрія у порівнянні з тканиною ендометрія без новоутворень встановлено найбільше підвищення активності металопротеїнази-2 (в 25,7 рази) за наявністю одночасно гіперпластичних і неопластичних процесів (аденоматоз + заозо-кістозна гіперплазія).

Вивчення активності металопротеїнази-2 в тканинах злоякісних новоутворень ендометрія виявило збільшення активності ферменту (відносно показників тканин ендометрія без новоутворень) в 7,3–10,2 рази і знижувалось зі ступенем диференціації клітин адено-карциноми злоякісної пухлини ендометрія (табл. 2).

Слід відмітити, що на відміну від результатів інших дослідників [11, 12], отримані нами результати демонструють, що металопротеїназа-2 є найбільш показовим критерієм наявності доброкісних новоутворень в тканинах ендометрія. Ці результати співпадають з результатами, отриманими нами раніше щодо активності катепсин В- і D-подібних ферментів, трипсиноподібних ферментів, а також активності

Активність металопротеїнази матриксу (МПМ-2) у тканинах

карбоксипептидаз А і В [13-15], що свідчить про неспецифічну реакцію організму на процес новоутворення в міометрії та ендометрії.

Таблиця 1

Активність металопротеїнази-2 в тканинах неураженого ендометрія та міометрія та в тканинах добрякісних новоутворень

Патоморфологічний стан тканин	n	Концентрація білка, г/г	Відносна активність, ммол/гліцину / хв мг тканини	Питома активність, ммол/гліцину / хв г білка
Міометрій без новоутворень	102	0,064±0,006	0,053 ± 0,006	0,828±0,077
Добрякісні новоутворення міометрія:				
Фібролейоміома + поліп	23	0,040±0,003↓	0,484±0,052↑	12,100±1,148↑
Фібролейоміома	42	0,043±0,004↓	0,527±0,041↑	12,255±1,192↑
Фібролейоміома проліферуюча	31	0,039±0,003↓	0,534±0,052↑	13,692±1,329↑
Ендометрій без новоутворень	102	0,058±0,006	0,048±0,022	0,827±0,099
Добрякісні новоутворення ендометрія:				
Кістозна атрофія	16	0,058±0,006	0,600±0,055↑	10,344±1,035↑
Залозо -кістозна гіперплазія	12	0,043±0,003↓	0,350±0,035↑	8,139±0,785↑
Ендометріоз + залозо -кістозна гіперплазія	11	0,056±0,006	0,558±0,056↑	9,964±1,021↑
Аденоматоз	15	0,038±0,004↓	0,667±0,066↑	17,552±1,696↑
Аденоматоз + залозо -кістозна гіперплазія	15	0,033±0,002↓	0,702±0,067↑	21,272±2,104↑
Ендометріоз + аденоматоз + залозо -кістозна гіперплазія	27	0,035±0,003↓	0,734±0,081↑	20,971±2,112↑

Примітка: ↑↓ — вірогідна зміна досліджених показників у трансформованій тканині міометрія та ендометрія у порівнянні з тканинами без овоутворень

Значні відмінності активності металопротеїнази у випадку добрякісних та злюкісних новоутворень в тканинах ендометрія та міометрія у порівнянні з тканинами без пухлин можуть свідчити про ключову роль МПМ-2 в проліферації клітин, а також про відсутність ефективних компенсаторних процесів, здібних деміфірувати це явище.

Таблиця 2

**Активність металопротеїнази-2 в тканині злоякісного новоутворення
ендометрія**

Патоморфологічний стан тканини	n	Концентрація білка, г/г	Відносна активність, ммоль гліцину / хв мг тканини	Питома активність, ммоль гліцину / хв г білка
Ендометрій без новоутворення	102	0,058±0,006	0,048±0,022	0,827±0,099
Злоякісні пухлини ендометрія:				
Високо-диференційована аденокарцинома	14	0,055±0,004	0,434±0,416↑	7,890±0,751↑
Помірно-диференційована аденокарцинома	19	0,055±0,004	0,467±0,044↑	8,490±0,867↑
Низько-диференційована аденокарцинома	8	0,066±0,006	0,400±0,039↑	6,060±0,585↑

Висновки:

- Активність металопротеїнази-2 значно зростає за наявності добробоякісних новоутворень в тканинах ендометрія та міометрія, що пов'язано з проліферуючою активністю пухлинних клітин.
- Активність металопротеїнази-2 злоякісної епітеліальної пухлини ендометрія — аденокарциноми — знижується зі ступенем диференціації пухлинних клітин.
- Металопротеїназа-2 є найбільш показовим критерієм наявності добробоякісних новоутворень ендометрія та міометрія.

Література

- Сологуб Л. І., Пашковська І. С., Антоняк Г. Л. Протеази клітин та іх функція — К: Наукова думка. — 1992. — 195 с.
- Tarin D., Hoyt B., Evans D. Correlation of collagenase secretion with metastatic-colonization potential in naturally occurring murine mammary tumors // Brit. J. Cancer. — 1982. — Vol. 46. — № 1. — P. 266–278.
- Wirl G., Frick J. Collagenase — a marker enzyme of human bladder cancer // Urol. Res. — 1979. — Vol. 7. — № 1. — P. 103–108.

Активність металопротеїнази матриксу (МПМ-2) у тканинах

4. Liotta L., Rao C., Barsky S. Tumor invasion and the extracellular matrix // *Lad. Invest.* — 1983. — Vol. 49. — N 3. — P. 636–649.
5. Tryggvason K., Hoyhtya M., Salo T. Proteolytic degradation of extracellular matrix in tumor invasion // *Biochem. Biophys. Acta.* — 1987. — Vol. 907. — № 1. — P. 191–217.
6. Terranova V., Maslow D., Markas L. Directed migration of murine and human tumor cells to collagenases and other proteases // *Cancer Res.* — 1989. — Vol. 49. — № 17. — P. 4835–4841.
7. Всесвітня Організація Здравоохранення // Матеріали єжегодних отчетов. — Санкт-Петербург. — 1981. — 286 с.
8. Bradshaw R. S., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* — 1969. — V. 63. — P. 1389–1394.
9. Protein measurement with the Folin phenol reagent / Lowry O. H., Rosenbrough N. I., Fan A. Z., Randol R. J. // *J. Biol. Chem.* — 1951. — V. 193. — P. 265–275.
10. Рокицкий П. Ф. Біологіческая статистика. — Минск: Вышш. Школа. — 1967. — 326 с.
11. Солов'єва Н. І. Матриксні металопротеїнази і их біологіческие функціи // Біо-органическая химия. — 1998. — Т. 24, № 4. — С. 245–255.
12. Гешелін С. А., Вовчук С. В., Близнюк Б. Ф., Варбанець В. Ф. Активність протеолітическої системи у больных раком молочной железы // Вопр. онкологии. — 1989. — Т. 35, № 10. — С. 1191–1198.
13. Вовчук И. Л., Бендерская Н. В., Чернадчук С. С., Мотрук Н. В. Тканевые протеиназы опухолей яичника и матки // Ученые записки Таврического национального университета. Серия "Биология" — 2001. — Т. 14 (32), — № 2. — С. 17–20.
14. Вовчук И. Л., Чернадчук С. С., Блохін Ю. В., Раздражнюк Г. С. Активність карбоксипептидаз у тканинах новоутворень тіла матки // Вісник ОНУ. — 2004. — Т. 9, № 1. — С. 25–33.
15. Чернадчук С. С., Вовчук И. Л. Активність катепсина В в опухолевой ткани репродуктивных органов женщин // Ученые записки Таврического национального университета. Серия "Биология" — 2003. — Т. 16 (55), №. 2. — С. 202–207.

С. С. Чернадчук, И. Л. Вовчук

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина.
e-mail: chuk32@yandex.ru, irvov@mail.ru

АКТИВНОСТЬ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ МАТРИКСА (МПМ-2) В ТКАНИХ НАВООБРАЗОВАНИЙ ЭНДОМЕТРИЯ И МИОМЕТРИЯ

Резюме

Изучена активность металлопротеиназы-2 в тканях доброкачественных и злокачественных новообразованиях эндометрия и миометрия. Установлено, что в тканях доброкачественных новообразований активность металлопротеиназы-2 изменяется в зависимости от пролиферативного потенциала опухолевых клеток миометрия и эндометрия. Активность металлопротеиназы-2 в тканях злокачественной эпителиальной опухоли эндометрия — аденокарциноме — уменьшалась со степенью дифференциации опухолевых клеток.

Ключевые слова: металлопротеиназы, эндометрий, миометрий, аденокарцинома, опухоль.

S. S. Chernadchuk, I. L. Vovchuk

Odessa National I.I. Mechnikov University,
Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine.
e-mail: chuk32@yandex.ru, irvov@mail.ru

**ACTIVITY OF METALLOPROTEINASES (MPM-2) IN THE TISSUES
WITH ONCOPATHOLOGY OF ENDOMETRIAL AND MIOMETRIAL**

Summary

The metalloproteinases-2 activity was studied in the tissues with benignant and malignant tumors of endometrial and miometrial. It was established that in the tissues of benignant tumors the activity of metalloproteinases-2 changes depends' on the vastness and depth of the oncoprocess and is defined by proliferating potential of the tumor cells of miometrial and endometrial. The activity of metalloproteinases-2 in the tissues of malignant epithelial tumor of endometrial — adenocarcenome — is decreasing with the level of differentiation of the tumor cells.

Keywords: metalloproteinases, endometrial, miometrial, adenocarcenome, tumor.

**БОТАНІКА,
ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН**



УДК 575:633.854.78

**В. А. Васін¹, асп., зав. бот. музеєм, В. О. Лях², д-р біол. наук, проф.,
зав. каф. ботаніки**

¹ Мелітопольський державний педагогічний університет,
72312, Мелітополь вул. Леніна, 20, тел. (06192)6-90-91

² Запорізький державний університет,
69063, Запоріжжя, вул. Жуковського, 66

ОСОБЛИВОСТІ ЖИЛКУВАННЯ ЛИСТКА МУТАНТА, ОТРИМАНОГО ПІД ДІЄЮ ЕТИЛМЕТАНСУЛЬФОНАТУ НА НАСІННЯ СОНЯШНИКА

У статті наведено опис мутанта з "опахалоподібним" типом жилкування, отриманого після дії етилметансульфонату на насіння соняшника. Авторами досліджені відмінності деяких ознак морфологічної будови листка мутанта в порівнянні з вихідною формою. Виявлено, що взаємовідношення бокових жилок до центральної жилки та розміщення жилок у пластинці листка мутанта в еволюційному плані має більш примітивні риси.

Ключові слова: мутант, листок, жилкування.

Покритонасінним властива дуже велика різноманітність форм, будови, розмірів і розміщення листків. Ця різноманітність обумовлена надзвичайною еволюційною пластичністю листка.

Досліджуваний нами вид соняшник однорічний (*Helianthus annuus* L.) відноситься до родини айстрових (*Asteraceae* L.) [1]. Це найчисельніша родина дводольних рослин. В ній від 1150 до 1300 родів і більше 20000 видів [2]. До цієї родини входять багаторічні і однорічні трави і напівкущі, ліани і невеликі або середньої величини дерева. Систематичне положення айстрових досить чітке, вони ніби завершують еволюційний розвиток головної філеми дводольних. Ця родина і тепер перебуває в стадії прогресивного розвитку і тому вивчення змін, які можуть відбуватися в ній, є актуальними.

У зв'язку з цим метою даної роботи було дослідити відмінності деяких морфологічних ознак будови листка мутантної та контрольної ліній. Не менш важливим видається аналіз відомого матеріалу щодо філогенезу жилкування листка з метою встановлення терміну виникнення мутації в гіпотетичному ланцюгу послідовних змін типів жилкування.

Матеріали і методи дослідження

Для досліджень використовували: в якості контролю — самозапильну лінію соняшника ЗЛ-9Б селекції Інституту олійних культур, яка є компонентом вже створених комерційних гібридів і широко використовується зараз у селекції для одержання нових вдалих комбінацій

схрещувань, та отриману на її основі мутантну лінію. Визначення мутантних форм та порівняння їх з контролем провадили шляхом візуального огляду рослин під час проходження ними основних фаз вегетації. Використовували проблемно-пошуковий метод підбору літератури з досліджуваної проблеми.

Результати та аналіз дослідження

В дослідженнях по з'ясуванню впливу етилметансульфонату (ЕМС) на зріле та незріле насіння соняшника виявлено велику кількість мутантів різних типів [3]. Серед них нашу увагу привернула мутація з незвичайним, відмінним від контролю, жилкуванням листків.

Листки контролю характеризувалися наступними ознаками: листок простий, з цільною листковою пластинкою, серцевидної форми (нижні "лопаті" знаходяться на одному рівні з місцем переходу черешка до листкової пластинки), край листкової пластинки городчастий, жилкування перистосітчасте (рис. 1, а, 1; 1, б, 1). Лінійні розміри: довжина від верхівки до черешка 21–22 см, ширина в найширшій частині листкової пластинки — 23–25 см. Опушення слабке. Листкова пластинка в просторі розміщена в одній площині (рис. 1, в). Черешок — довжиною 20–22 см.

Мутанти ж мали листки з наступними ознаками: листок простий, з цільною листковою пластинкою, більш вираженої серцевидної форми (нижні "лопаті" більше виходять за місце переходу черешка в листкову пластинку), край листкової пластинки зубчастий, жилкування більш схоже на пальчасте (не так яскраво виражена головна жилка). Жилки мали дихотомічне галуження (при роздвоенні однакової за розміром) і утворювали анастомози (рис. 1, а, 2; 2, б, 2). Лінійні розміри: довжина від верхівки до черешка — 14–15 см, ширина в найширшій частині листкової пластинки — 15–16 см, нижні лопаті знаходяться нижче місця прикріплення черешка до листкової пластинки на 3–4 см. Опушення слабке. Листкова пластинка в просторі V-подібно зігнута на адаксимальну сторону. Черешок довжиною 20–22 см, але розміщений під гострішим кутом по відношенню до стебла ніж черешок контролю (рис. 1, в, г).

За порівняння листків мутанта і контролю видно, що вони відрізняються за багатьма ознаками, але найяскравішою відмінною рисою є тип жилкування. В зв'язку з цим ми спробували з'ясувати із літературних джерел, як змінювалося жилкування в процесі еволюції покритонасінних і як отримана мутантна форма може вписуватися в ряд послідовних змін.

У вищих рослин жилкою називають провідні пучки з тканинами, які їх оточують в пластинках листків. А жилкування — це система жилок з провідними пучками в листковій пластинці [4].

В процесі еволюції жилкування змінювались як взаємовідношення бокових жилок та головної жилки, так і розміщення жилок в пластинці листка [5].

Порівнюючи листки контролю і мутанта за першою ознакою (взаємовідношення головної і бокових жилок), виявили, що для листків

Особливості жилкування листка мутанта соняшника

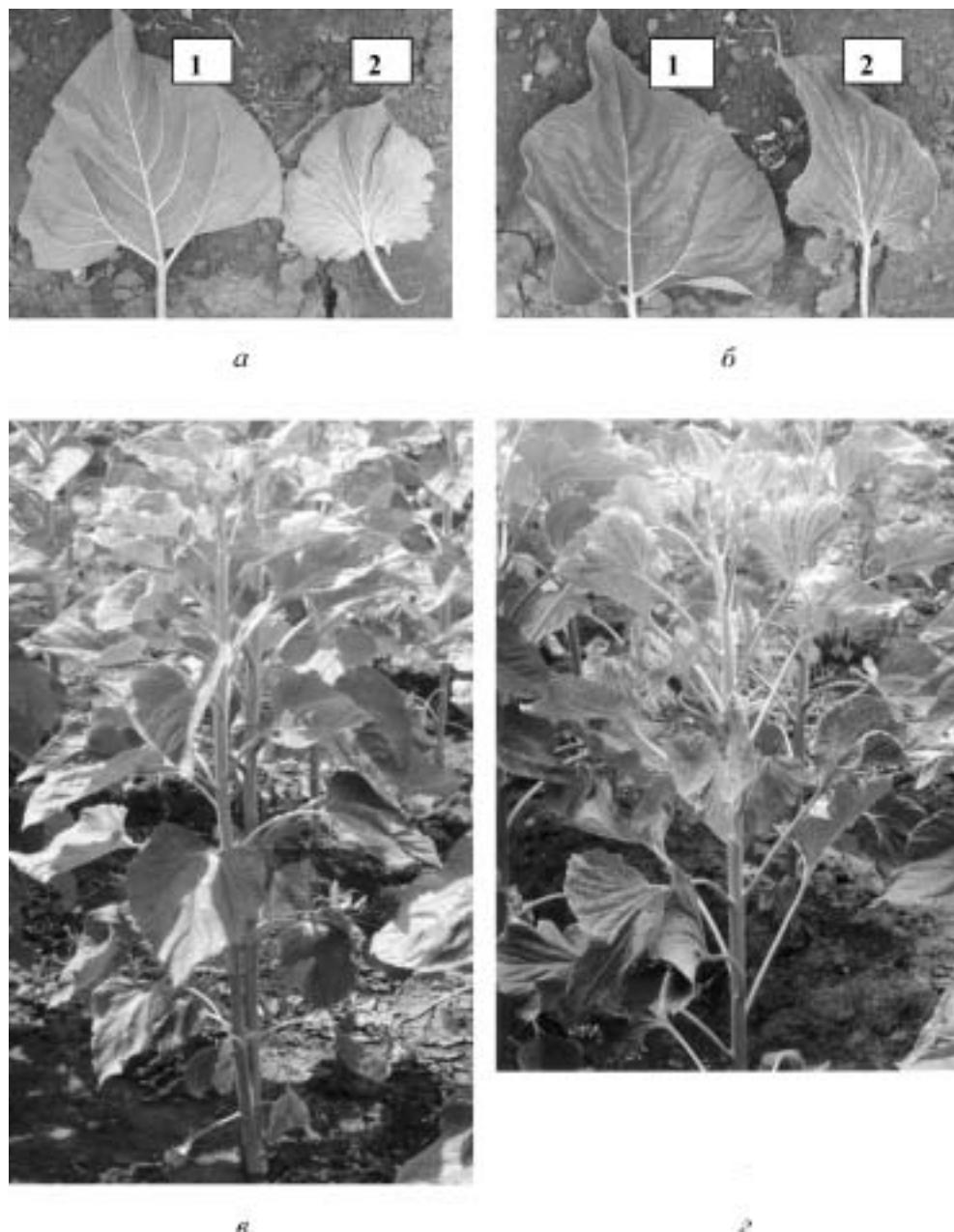


Рис. 1. Контрольна та мутантна форми соняшника
а — нижня сторона листків (1 — контроль, 2 — мутація); *б* — верхня сторона листків (1 — контроль, 2 — мутація); *в* — контрольна рослина (загальний вигляд); *г* — рослина-мутант (загальний вигляд)

контролю характерне перисте жилкування, у мутанта ж спостерігається перехідний тип від перистого до опахалоподібного (головна жилка не так яскраво виражена, як у контролю, а основна частина бокових жилок першого порядку відходить не від головної жилки, а від чешшка, при цьому бокові жилки дихотомічно галузяться, утворюючи анастомози).

Змінено також кут відходження бокових жилок від неявно вираженої головної жилки, він більш гострий (у контролю — 60–700, а у мутантів — в два рази менше). Загострення кута відходження жилок характерне для більш примітивних типів перистого жилкування [6, 7].

Для визначення і порівняння другої ознаки (проходження жилок в листковій пластиці) нами використана класифікація, запропонована рядом авторів [5], в якій різні типи жилкування розрізняють за розміщенням і закінченням бічних жилок (жилок другого порядку) в пластиці. Відповідно до неї виділяють: крайобіжне (краспелодромне), петлевидне (брехідодромне), дуговидне (кампелодромне), сітчасте (діктіодромне).

Листки контролю мають тип жилкування близчий до діктіодромного (бокові жилки, не доходячи до краю пластиинки, багаторазово галузяться, і їх багаточисельні відгалуження з'єднуються між собою, утворюючи сітку із окремих петель). У мутанта також спостерігаються риси сітчастого (діктіодромного) жилкування, але при цьому наявні ознаки, які характерні для крайобіжного (краспелодромного), — деякі бокові жилки, як правило, доходять до краю пластиинки, а нерідко навіть виступають за край у вигляді зубців або щетинок.

Таким чином, контрольним рослинам притаманний найдосконаліший тип жилкування, а у мутантної форми спостерігаються риси найпримітивнішого.

Підсумовуючи, слід підкреслити, що жилкування мутантної форми має: більш примітивний тип взаємовідношення головної і бічних жилок і схожий на опахалоподібний; тип проходження жилок по листковій пластиці також властивий більш примітивним формам; кут відходження бічних жилок від головної притаманний примітивним типам перистого жилкування.

В літературі інколи мутації називають "виродливостями" і, якщо отримана мутантна форма має більш просту будову, ніж нормальна форма, то вона є "реверсією", поверненням до предкового стану. Деякі автори вважають ці "виродливості" атавізмами [6]. Атавізмами називають появу ознак, які не зустрічаються ні у батьківських форм, ні у найближчих поколінь, але зустрічаються у предкових форм.

На підставі проведеного аналізу та з урахуванням зазначених поглядів отриману мутацію можна вважати атавізмом. Водночас не слід вважати, що така мутація — це справжнє повернення до вихідної предкової форми, оскільки кожна атавістична ознака, яка проявляється при аномаліях, корелятивно пов'язана з усіма сучасними ознаками організму і проявляється у тісній взаємодії з ними і тому може мати інший, змінений вигляд.

Родина *Asteraceae* L., до якої відноситься соняшник (*Helianthus annuus* L.), включає роди, у яких дуже широке варіювання типів

Особливості жилкування листка мутанта соняшника

жилкування. Так пальчасте жилкування спостерігається у *Patasites* Mill., *Adenostyles* Cass. та ін., перисте — у *Centaurea* L., *Achillea* L. та ін., сітчасте — у *Scorzonera* L., *Tragopogon* L. та ін., і отриману мутацію можна легко поставити в гіпотетичний ряд проміжних типів жилкування та форм листкової пластинки.

Висновки

1. Виявлений мутант може бути показовим прикладом переходу від одного типу жилкування до іншого.
2. Хімічний мутагенез можна використовувати не тільки для отримання цінних в господарському відношенні мутантів, а й для одержання форм, які можуть бути переходними ланками від сучасних форм до предкових і вказують на можливі філогенетичні зв'язки.

Література

1. *Определитель высших растений Украины* / Доброчаева Д. Н., Котов М. И., Прокудин Ю. Н. и др. — К.: Наук. думка, 1987. — 548 с.
2. *Липа О. Л., Добровольский И. А. Ботаника. Систематика нижних та вищих рослин.* — К.: Вища школа. — 1975. — 400 с.
3. *Васін В. А., Лях В. О. Спектр індукованих етилметансульфонатом мутацій у соняшника* // Вісник Запорізького державного університету. — 2003. — № 1. — С. 126–130.
4. *Словарь ботанических терминов* / под ред Дудки И. А. — К.: Наук. думка, 1984. — 308 с.
5. *Тахтаджян А. Л. Основы эволюционной морфологии покрытосеменных.* — М.: Наука, 1964. — 236 с.
6. *Тахтаджян А. Л. Вопросы эволюционной морфологии растений.* — Изд-во Лен. ун-та, 1954. — 215 с.
7. *Эсая К. Анатомия растений.* — М.: Мир, 1969. — 564 с.

¹ В. А. Васин, ² В. А. Лях

¹ Мелитопольский государственный педагогический университет
72312 Мелитополь, ул. Ленина, 20, тел. (06192)6-90-91

² Запорожский государственный университет,
69063 Запорожье, ул. Жуковского, 66

ОСОБЕННОСТИ ЖИЛКОВАНИЯ ЛИСТА МУТАНТА, ПОЛУЧЕННОГО ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЭТИЛМЕТАНСУЛЬФОНАТА НА СЕМЕНА ПОДСОЛНЕЧНИКА

Резюме

В статье приведено описание мутанта с "веерообразным" типом жилкования, полученного под действием этилметансульфоната на семена подсолнечника. Авторами описаны отличия некоторых признаков морфологического строения листа мутанта в сравнении с исходной формой. Выявлено, что взаимоотношение боковых жилок и центральной жилки и размещение жилок в пластинке листа мутанта в эволюционном плане имеет более примитивные черты.

Ключевые слова: мутант, листок, жилкование.

¹ V. A. Vasin, ² V. A. Lyakh

**¹ Melitopol State Pedagogical University
72312 Melitopol, Lenin st., 20, tel. (06192)69091**

**² Zaporozhye State University
69063 Zaporozhye, Zhykovskogo st., 66**

**FEATURES OF SALTANTS SHEET VENATION OBTAINED
THROUGT ETYLMETANSULPHONATE OPERATING ON
SUNFLOWER SEEDS**

Summary

The article deals with the description of the mutant with "fan-shaped" type of venation, which was received under the influence of ethylmethanesulfonate on the sunflower seeds. The authors have investigated the difference of some indications of the mutant leaf morphological texture in comparison with the initial form. It has revealed that the interrelation of lateral and central ribs and the placing of the ribs in the mutant leaf blade has more primitive traits from the evolution point of view.

Keywords: mutant, leaf, venation.

УДК 581.9 (477-74)

Т. В. Васильєва, канд. біол. наук, доц.

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, каф. ботаніки,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ІНВАЗІЙНО АКТИВНІ АДВЕНТИВНІ ВИДИ РОСЛИН ПІВДЕННОЇ БЕССАРАБІЇ

Розглянуто адVENTивні рослини Південної Бессарабії, які мають особливу інвазійну активність. Виділено 69 видів з 57 родів, 25 родин, 10 підкласів, 3 класів. Виявлено, що ці види, розповсюджені у різних місцезростаннях, є переважно трав'янистими однорічниками північноамериканського чи середземноморського походження

Ключові слова: інвазійні рослини, Південна Бессарабія, аналіз флори.

Рослинний покрив будь-якої території у сучасних умовах включає комплекси, утворені апофітами, адVENTивними рослинами, видами рослин-культivarів та залишками аборигенних видів природних фlorо-комплексів. При існуючих темпах розвитку людства рослинний покрив трансформується під впливом антропогенного фактора і цей процес набуває все більшого розвитку. Представники української школи синантропної фlorистики вважають, що під тиском господарської діяльності людини видове різноманіття регіональних фlor збідлюється, просторова структура рослинного покриву значно змінюється [1, 2]. Антропогенний фактор призводить до інвазії нових адVENTивних видів, які можуть стимулювати еволюційні процеси у фlorі. АдVENTивну фракцію фlorи в першу чергу складають бур'яни, які завдають школи сільському господарству, утворюють на новій території стійкі раси, що виявляються дуже небезпечними. Останнім часом ботаніки стали використовувати термін "біологічне забруднення", під яким розуміють появу чужорідних генотипів в існуючих природних фlorокомплексах [3, 4].

Успішність фітоінвазії обумовлюється тим, що для цих рослин на новій батьківщині немає збудників хвороб та шкідників, які б могли обмежити їх чисельність. Крім того, чужинці мають високу толерантність до широкого спектру екологічних умов, відзначаються агресивністю у захопленні нових територій, розповсюджуються декількома способами: вегетативно та насінням, відзначаються високою активністю у ценозах, оскільки їх у себе на батьківщині були бур'янами. С. Л. Моякін, С. П. Петрик, Т. В. Васильєва-Немерцалова [5] відзначають, що занесення бур'янів здійснюється з територій, які охоплені вторинними синантропними ареалами відповідних видів, вказують на найбільш небезпечні екотопи — "ворота інвазії", крізь які проникають адVENTивні види. Ці автори дійшли висновку, що найнебезпечніші адVENTивні види походять здебільшого з досить віддалених районів Земної кулі.

Проблема інвазійних рослин гостро стоїть перед усіма країнами, особливо європейськими. Ці види мігрують Європою, інтенсивно розповсюджуються, їх роль у сучасному флорогенезі дуже важлива.

Метою наших досліджень було всебічно проаналізувати інвазійні види адвентивних рослин території Південної Бессарабії.

Об'єкти і методи дослідження

Об'єктом дослідження було визначення стану та основних шляхів формування інвазійної флори. Предметом дослідження — адвентивна фракція флори Південної Бессарабії.

Проведено систематичний аналіз інвазійних видів рослин [6]. Ми виділили хронотипи адвентивних видів за часом потрапляння на територію Південної Бессарабії, виявили ступінь натуруалізації кожного інвазійного виду, його флорогенетичне походження, життєву форму, а також участь у певних флорокомплексах. Таксономічний аналіз провадили за загальноприйнятою методикою [7], назви таксонів наведені за Mosyakin S.L. & Fedoronchuk M.M. [8], хронотипи визначені за В. В. Протопоповою [1], флорогенетичний аналіз проведено за [1, 9, 10], аналіз життєвих форм за І. Г. Серебряковим [11].

Одержані результати та їх обговорення

Дослідженнями встановлено, що з 1789 видів квіткових рослин, які ростуть на території Південної Бессарабії, майже чверть є бур'янами. Характерною особливістю цих видів є те, що вони ростуть спонтанно. Найчастіше — це біологічно активні види адвентивної фракції флори з широкою екологічною амплітудою, які добре натуруалізуються у трансформованих екотопах.

Аналіз інвазійно активних адвентивних видів за хронотипами (часом потрапляння на територію Південної Бессарабії) дозволив виділити 29 археофітів, серед яких: *Brassica campestris* L., *Conium maculatum* L., *Descurainia sophia* (L.) Webb. ex Prantl., *Lepidium ruderale* L., *Papaver rhoeas* L., *Portulaca oleracea* L. та 41 кенофіт: *Centaurea diffusa* Lam., *Echinocystis lobata* (Michx) Torr. et A.Gray, *Elaeagnus angustifolia* L., *Galinsoga parviflora* Cav., *Grindelia squarrosa* (Pursh) Dunal, *Xanthium albinum* (Widd) H. Scholz. та ін.

Спостерігається така динаміка: серед археофітів найбільше рослин, що є вихідцями з Давнього Середзем'я, а серед кенофітів — найбільше рослин американського походження. На наш погляд, це відзеркалює характер економічних зв'язків, шляхів міграцій населення і постійне проходження потоків вантажів через територію Південної Бессарабії, завдяки чому адвентивні рослини масово потрапляють у флору регіону. Як відомо, у давні часи на цій території знаходилися грецькі поселення, розвивалася торгівля, будували гавані, кораблі перевозили вантажі морем. Тому давні економічні зв'язки з Середземноморськими країнами знайшли своє відображення у складі адвентивної флори. Серед рослин середземноморського походження можна вказати: *Foeniculum vulgare* Mill, *Hordeum leporinum* Link., *Raphanus*

Інвазійно активні адвентивні види рослин Південної Бессарабії

raphanistrum L., *Sonchus arvensis* L., *Torilis arvensis* (Huds.) Link. інш. Серед рослин азіатського походження на території Південної Бессарабії натуралізувалися такі: *Senecio vulgaris* L., *Acroptilon repens* (L.) DC., *Artemisia annua* L.

У 60-ті роки ХХ ст., після того, як почали імпортuvати зерно з США, у флорі значно збільшилася кількість інвазійних видів американського походження. Серед епекофітів американського походження можна назвати: *Amaranthus albus* L., *A. blitoides* S. Watson, *A. powelii* S. Watson, *A. retroflexus* L., *Oxybaphus nyctagineus* (Michx) Sweet., серед агріофітів: *Azolla caroliniana* Willd., *A. filiculoides* Lam., *Conyza canadensis* (L.) Cronq., *Sagittaria latifolia* Willd.

Всі вони характеризуються високим ступенем натуралізації, входженням у природні та трансформовані флорокомплекси, а також тенденцією до подальшого розповсюдження і поширення ареалу. Найбільшу активність у різних ценозах виявляють види, що відомі як найнебезпечніші карантинні бур'яни*: *Acroptilon repens* (L.) DC, *Ambrosia artemisiifolia* L., *Cenchrus longispinus* Benth., *Cuscuta campestris* Yunck., *Solanum cornutum* Lam., які характеризуються найбільшою інвазійною спроможністю.

Наведемо коротку характеристику інвазійних адвентивних рослин Південної Бессарабії. Вони належать до 2 відділів, 3 класів, 10 підкласів, 25 родин, 57 родів, 69 видів. Разом з короткою характеристикою наводимо місця їх зростання.

Відділ — Polypodiophyta

Клас — Polypodiopsida

Підклас — Salviniidae

Родина Azollaceae Wettst — Азолові

Azolla caroliniana Willd. (азола каролінська) — кенофіт північноамериканського походження, агріофіт, трав'янистий однорічник; при-дунайські озера.

Azolla filiculoides Lam. (азола папоротевидна) — кенофіт північноамериканського походження, агріофіт, трав'янистий однорічник; при-дунайські озера.

Відділ — Magnoliophyta

Клас — Magnoliopsida

Підклас — Asteridae

Родина Asteraceae Dumort — Айстрові

**Acroptilon repens* (L.) DC. (степовий гірчак звичайний) — кенофіт передньоазійського походження, епекофіт, трав'янистий полікарпік; на полях, солончакових луках.

**Ambrosia artemisiifolia* L. (амброзія полинолиста) — кенофіт північно-американського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; на полях, вздовж шляхів, по берегах прісних водойм.

Artemisia abrotanum L. (полин лікарський) — археофіт передньоазійського походження, епекофіт, напівкущ, полікарпік; на піщаних схилах.

Artemisia absinthium L. (полин гіркий) — археофіт ірансько-туранського походження, епекофіт, трав'янистий полікарпік; біля житла, вздовж полів і шляхів.

Artemisia annua L. (полин однорічний) — кенофіт східноазійського походження, агріо-епекофіт, трав'янистий однорічник; біля житла, на вулицях, вздовж вигонів та шляхів.

Carduus acanthoides L. (будяк акантовидний) — археофіт середземноморського походження, епекофіт, трав'янистий полікарпік; на схилах, вигонах, узбіччях шляхів.

Carthamus lanatus L. (сафлор шерстистий) — кенофіт середземноморського походження, епекофіт, трав'янистий одно-дворічний монокарпік; на пісках, вздовж доріг.

Centaurea diffusa Lam. (волошка розлога) — кенофіт середземноморсько-ірансько-туранського походження, агріо-епекофіт, трав'янистий дворічний монокарпік; на степових схилах, випасах, вздовж шляхів та залізниці, біля житла.

Centaurea solstitialis L. (волошка сонячна) — кенофіт середземноморсько-західноєвропейсько-західноазійського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; вздовж шляхів, на залізниці, на схилах.

Couyga canadensis (L.) Cronq. (коніза канадська) — кенофіт північноамериканського походження, агріофіт, трав'янистий однорічник; біля житла, на полях.

Galinsoga parviflora Cav. (галінсога дрібноцвіта) — кенофіт північноамериканського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; на городах, садибах, у парках, на клумбах.

Grindelia squarrosa (Pursh) Dunal (гринделія розчепірена) — кенофіт північноамериканського походження, агріо-епекофіт, трав'янистий полікарпік; вздовж залізниці, шляхів, по перелогах, на пасовиськах, по берегах прісних водойм.

Helianthus tuberosus L. (соняшник бульбистий) — кенофіт північноамериканського походження, агріо-епекофіт, трав'янистий полікарпік; на городах, біля житла.

Iva xanthifolia Nutt. (чорнощир нетреболистий) — кенофіт північноамериканського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; вздовж залізниць, на берегах озер, на городах.

Lepidotheca suaveolens (Pursh.) Nutt. (лепідотека запашна) — кенофіт північноамериканського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; вздовж шляхів, по полях.

Senecio vulgaris L. (жовтоцілля звичайне) — археофіт азійського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; біля житла, у шляхів, на полях, на схилах.

Solidago canadensis L. (золотушник канадський) — кенофіт північноамериканського походження, агріо-епекофіт, трав'янистий полікарпік; у парках, на обійстях.

Sonchus arvensis L. (жовтий осот польовий) — археофіт середземноморського походження, епекофіт, трав'янистий полікарпік; на полях, біля житла.

Інвазійно активні адвентивні види рослин Південної Бессарабії

Sonchus asper (L.) Hill. (жовтий осот шорсткий) — археофіт середземноморського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; на городах, біля житла.

Sonchus oleraceus L. (жовтий осот городній) — археофіт середземноморського походження, трав'янистий дво-багаторічний монокарпік; на городах і полях.

Tripleurospermum inodorum (L.) Sch. Bip. (триреберник непахучий) — археофіт західноазійського походження, епекофіт, трав'янистий дво-багаторічний монокарпік; на полях, біля шляхів.

Xanthium albinum (Widd) H. Scholz (нетреба ельбінська) — кенофіт середньоєвропейського походження, агріо-епекофіт, трав'янистий однорічник; вздовж шляхів, на вигонах, городах, полях.

Підклас — **Caryophyllidae**

Родина Amaranthaceae Juss. — Щирицеві

Amaranthus albus L. — кенофіт північноамериканського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; на полях, городах, в садах, вздовж шляхів.

Amaranthus blitoides S. Watson. — кенофіт північноамериканського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; на полях, городах, в садах, вздовж шляхів.

Amaranthus powelii S. Watson. — кенофіт тропічноамериканського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник, вздовж залізничних колій.

Amaranthus retroflexus L. — кенофіт північноамериканського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; на полях, городах, в садах, парках, на вулицях, вздовж шляхів і залізничних колій.

Родина Caryophyllaceae Juss. — Гвоздичні

Saponaria officinalis L. (мильнянка лікарська) — кенофіт середземноморського походження, агріофіт, трав'янистий однорічник; біля житла, на узліссях.

Родина Nyctaginaceae Juss. — Ніктагінові

Oxybaphus nyctagineus (Michx.) Sweet. (оксибаф нічноцвітий) — кенофіт північноамериканського походження, епекофіт, трав'янистий полікарпік; у парках, на вулицях, вздовж залізничних колій.

Родина Portulacaceae Juss. — Портулакові

Portulaca oleracea L. (портулак городній) — археофіт ірансько-турецького походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; на городах, виноградниках, вздовж шляхів.

Підклас — **Dilleniidae**

Родина Brassicaceae Burnett — Капустяні

Brassica campestris L. (капуста польова) — археофіт центрально-азійського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; на городах, в садах, вздовж шляхів, на полях.

Capsella bursa-pastoris (L.) Medik. (трицики звичайні) — археофіт нез'ясованого походження, агріопекофіт, трав'янистий однорічник; на полях, вздовж шляхів, біля житла, у парках.

Cardaria draba (L.) Desv. (кардарія крупковидна) — кенофіт південноєвропейського і азійського походження, трав'янистий полікарпік; на полях, вздовж шляхів, на вигонах, в парках, на схилах.

Descurainia sophia (L.) Webb. ex Prantl. (кудрявець Софії) — археофіт ірансько-туранського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; на городах, полях, біля житла, вздовж шляхів.

Diplotaxis tenuifolia (L.) DC. (дворядник тонколистий) — кенофіт середземноморського походження, епекофіт, трав'янистий полікарпік; на вигонах, вздовж шляхів, у парках, на вулицях.

Lepidium ruderale L. (хрінниця смердюча) — археофіт ірансько-туранського походження, епекофіт, трав'янистий дво-багаторічний монокарпік; вздовж шляхів, на залізниці, на вулицях, на схилах.

Raphanus raphanistrum L. (редька дика) — археофіт середземноморського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; на полях, вздовж шляхів.

Sinapis arvensis L. (тірчиця польова) — археофіт середземноморсько-атлантичного походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; на полях.

Sisymbrium loeselii L. (сухоребрик Льозеліїв) — кенофіт середземноморського і азійського походження, епекофіт, трав'янистий одно-дво-річний монокарпік; біля житла, на полях, вздовж шляхів, на схилах.

Sisymbrium wolgense M. Bieb. ex Foum. (сухоребрик волзький) — кенофіт східнопонтійського походження, епекофіт, трав'янистий полікарпік; на полях, вздовж шляхів та залізниць.

Родина Cannabaceae Endl. — Коноплеві

Cannabis ruderalis Janisch. (коноплі рудеральні) — кенофіт середніазійського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; на полях, вздовж шляхів, на рудеральних місцях.

Родина Cucurbitaceae Juss. — Гарбузові

Echinocystis lobata (Mixch.) Torr. Et A. Gray (ехіноцистис шипуватий) — кенофіт північноамериканського походження, агріофіт, трав'янистий однорічник, ліана; по берегах річок, на обійстях як декоративний.

Родина Malvaceae Juss. — Малькові

Malva neglecta Wallr (калачки непомітні) — археофіт ірансько-туранського походження, епекофіт, трав'янистий дво-багаторічний монокарпік; біля житла, на вулицях, в парках.

Malva pusilla Smith. (калачки маленькі) — археофіт резистентний, епекофіт, трав'янистий дво-багаторічний монокарпік; біля житла, в парках.

Родина Salicaceae Mirb. — Вербові

Salix fragilis L. (верба ламка) — археофіт малоазійського походження, агріофіт, дерево; по берегах річок, біля житла.

Підклас — Lamiidae

Родина Cuscutaceae Dumort. — Повитицеві

**Cuscuta campestris* Yunck. (повитиця польова) — кенофіт північноамериканського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник, паразит; на полях, узбіччях шляхів, на залізниці.

Родина Lamiaceae Lindl. — Глухокропивові

Ballota nigra L. s.l. (м'яточник чорний) — археофіт середземноморсько-ірансько-туранського походження, геміагріофіт, трав'янистий полікарпік; біля житла, на схилах, вздовж шляхів.

Родина Solanaceae Juss. — Пасльонові

Lycium barbatum L. (повій звичайний) — археофіт східноазійського походження, епекофіт, кущ; на схилах, вздовж шляхів.

**Solanum cornutum* Lam. (паслін рогатий) — кенофіт північноамериканського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; на полях, на схилах, місцях перевантаження зерна.

Підклас — Ranunculidae

Родина Papaveraceae Juss. — Макові

Papaver rhoeas L. (мак дикий) — археофіт середземноморсько-ірансько-туранського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; на схилах, вздовж шляхів, на полях.

Підклас — Rosidae

Родина Aceraceae Juss. — Кленові

Acer negundo L. (клен ясенолистий) — кенофіт північноамериканського походження, агріофіт, дерево, використовується у зеленому будівництві, росте у полезахисних смугах, вздовж шляхів.

Родина Apiaceae Lindl. — Селерові

Conium maculatum L. (болиголов плямистий) — археофіт середземноморсько-ірансько-туранського походження, епекофіт, трав'янистий дворічний монокарпік; по краях полів, біля шляхів, на вологих місцях.

Foeniculum vulgare Mill. (фенхель звичайний) — кенофіт середземноморського походження, геміагріофіт, трав'янистий дво-багаторічник, монокарпік; на городах.

Torilis arvensis (Huds.) Link (ториліс польовий) — археофіт середземноморського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; на сухих схилах, біля шляхів.

Родина Balsaminaceae A. Rich. — Бальзамінові

Impatiens parviflora DC. (розрив-трава дрібноквіткова) — кенофіт центральноазійського походження, агріофіт, трав'янистий однорічник; у парках, на забур'янених місцях.

Родина Elaeagnaceae Juss. — Маслинкові

Elaeagnus angustifolia L. (маслинка вузьколиста) — кенофіт середземноморського походження, агріофіт, дерево; у парках, в озелененні, на пісках, вздовж шляхів.

Родина Fabaceae Lindl. — Бобові

Amorpha fruticosa L. (аморфа кущова) — кенофіт північноамериканського походження, агріофіт, кущ; у парках, вуличних насадженнях, лісосмугах, на залізницях.

Vicia villosa Roth. (горошок волохатий) — археофіт середземноморського походження, агріо-епекофіт, трав'янистий одно-дворічний монокарпік; вздовж шляхів, на схилах.

Родина Peganaceae Tiegh. — Гармалові

Peganum harmala L. (гармала звичайна) — археофіт середземноморсько-ірансько-туранського походження, епекофіт, трав'янистий полікарпік; на вигонах, у степах.

Родина Simaroubaceae DC — Симарубові

Ailanthus altissima (Mill) Swingle. (айлант найвищий) — кенофіт східно-азійського походження, епекофіт, дерево; у парках, вздовж шляхів та залізниці, у лісосмугах, на вулицях.

Клас — **Liliopsida**

Підклас — **Alismatidae**

Родина Alismataceae Vent. — Частухові

Sagittaria latifolia Willd. (стрілолист широколистий) — кенофіт північноамериканського походження, агріофіт, трав'янистий полікарпік; озера, стоячі водойми.

Підклас — **Arecidae**

Родина Araceae Juss. — Ароїдні

Acorus calamus L. (лепеха звичайна) — археофіт південного і східноазійського походження, агріофіт, трав'янистий полікарпік; на болотах, у заплавах.

Підклас — **Liliidae**

Родина Poaceae Barnhart. — Тонконогові

Anisantha tectorum (L.) Nevska (анизанта покрівельна) — археофіт середземноморсько-східнотуранського походження, агріо-епекофіт, трав'янистий однорічник; вздовж шляхів, на полях, пісках.

* *Cenchrus longispinus* Benth. (ценхрус довгоколючковий) — кенофіт північноамериканського походження, агріо-епекофіт, трав'янистий однорічник; на пісках, виноградниках, на залізниці.

Echinochloa crus-galli (L.) R. Beauv. (плоскуха звичайна) — археофіт азійського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; біля житла, у посівах, вздовж шляхів.

Інвазійно активні адвентивні види рослин Південної Бессарабії

Hordeum leporinum Link (ячмінь заячий) — кенофіт середземноморського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; біля житла, вздовж шляхів, на схилах, у парках.

Hordeum murinum L. (ячмінь мишачий) — археофіт середземноморсько-ірансько-туранського походження, епекофіт, трав'янистий однорічник; біля житла, вздовж шляхів, на схилах.

Setaria glauca R. Beauv. (мишій сизий) — археофіт іndo-малазійського походження, геміагріофіт, трав'янистий однорічник; біля житла, по берегах водойм, вздовж шляхів.

Таким чином, поява нових для регіону адвентивних видів, їх широке розповсюдження і натуралізація у різних екотопах веде до уніфікації місцевої флори, витіснення степотопних аборигенних видів, які і створюють "обличчя флори". Тому необхідний постійний моніторинг відомих популяцій інвазійно небезпечних видів, виявлення нових їх локалітетів, а також створення умов, які запобігали б проникненню та розповсюдженю таких видів на територію Південної Бессарабії.

Висновки

1. На території Південної Бессарабії нами виявлено 69 видів адвентивних рослин з 57 родів, 25 родин, 10 підкласів, 3 класів, 2 відділів, які є інвазійно активними.

2. За хронотипом (часом потрапляння на територію) виділено 28 археофітів та 41 кенофіт. Серед археофітів найбільше рослин середземноморського походження, серед кенофітів - північноамериканського.

3. За життєвою формою серед інвазійних видів найбільше трав'янистих однорічників.

4. Більшість рослин тяжіє до рудеральних екотопів.

Дослідження виконані при підтримці ДФФД (тема 06.07.00072 "Інвазійний потенціал адвентивної флори Причорномор'я")

Література

1. Протопопова В. В. Синантропная флора Украины и пути её развития. — Киев: Наук. думка, 1991. — 204 с.
2. Васильєва-Немерцалова Т. В. Рослини-уніфікатори синантропної флори м. Одеси // Укр. ботан. журн. — 1996. — Т. 53, № 3. — С. 288–290.
3. Бурда Р. І., Тохтар В. К. Загроза біологічного забруднення довкілля України північноамериканськими видами // Укр. ботан. журн. — 1998. — Т. 55, № 2. — С. 127–132.
4. Мосякін С. Л. Проблема "біологічного забруднення" та її відображення в сучасній американській біологічній літературі // Укр. ботан. журн. — 1994. — Т. 51, № 5. — С. 128–130.
5. Мосякін С. Л., Петрик С. П., Васильєва-Немерцалова Т. В. Нові знахідки в адвентивній флорі м. Одеси // Укр. ботан. журн. — 1994. — Т. 51, № 4. — С. 141–143.
6. Васильєва Т. В., Коваленко С. Г. Конспект флори Південної Бессарабії. — Одеса: Видав-Інформ, 2003. — 250 с.
7. Определитель высших растений Украины. — Киев: Наук. думка, 1987. — 548 с.
8. Mosyakin S. L., Fedorovichuk M. M. Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist. — Kiev, 1999. — 345 p.

-
9. Протопопова В. В., Мосякін С. Л., Шевера М. В. Фітоінвазії в Україні як загроза біорізноманіттю: сучасний стан і завдання на майбутнє. — Київ, 2002. — 32 с.
 10. Толмачёв А. И. Введение в географию растений. — Л.: Изд Лен. ун-та, 1974. — 189 с.
 11. Серебряков И. Г. Экологическая морфология растений. — М.: Высшая школа, 1962. — 378 с.

Т. В. Васильєва

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра ботаники,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

**ИНВАЗИОННО АКТИВНЫЕ АДВЕНТИВНЫЕ ВИДЫ РАСТЕНИЙ
ЮЖНОЙ БЕССАРАБИИ**

Резюме

Рассматриваются адвентивные растения Южной Бесарабии, у которых отмечена особая инвазионная активность. Выделено 69 видов из 57 родов, 25 семейств, 10 подклассов, 3 классов. Установлено, что эти виды распространены в различных экотопах, являются преимущественно травянистыми однолетниками североамериканского или средиземноморского происхождения.

Ключевые слова: инвазионные растения, Южная Бесарабия, анализ флоры.

T. V. Vasyl'yeva

Odesa National I. I. Mechnikov University, Botany Department,
Dvoryanska Str., 2, Odesa, 65026, Ukraine

**INVASIVE ACTIVITY OF THE SOUTHERN BESSARABIA ALIEN
PLANTS**

Summary

There were studied the alien plants from the Southern Bessarabia which posses the particular invasive activity. There were marked out 69 species from 57 genera, 25 families, 10 subclasses, 3 classes. Those species are spread in different locations and are mainly herbaceous annuals of the Northern America and Mediterranean originality.

Keywords: invasion plants, the South Bessarabia, analysis of flora.

УДК 581.9 (477.74-47)

В. В. Немерцалов, асп.

Одесський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра ботаніки,
Шампанський пров., 2, Одеса, 65058, Україна

ГОЛОНАСІННІ У ДЕНДРОФЛОРИ М. ОДЕСИ

Проведено систематичний, флорогенетичний та екобіоморфологічний аналіз представників відділу Голонасінні, що зустрічаються у дендрофлорі м. Одеси. Наведена інформація про їхні екологічні особливості (газо- і димостійкість, відношення до складу ґрунтів). Представлено список рослин, що найширше використовуються у зеленому будівництві.

Ключові слова: дендрофлора, Голонасінні, місто Одеса.

До відділу Голонасінні (*Pinophita*, або *Gymnospermae*) у світовій флорі відноситься біля 700 видів рослин — це дерева, кущі та ліани. Голонасінні винikли у кінці палеозою, а їхній розквіт припадає на крейдяний період мезозою. Тоді ж почалося витіснення Голонасінних Покритонасінними. Проте й зараз великі площа суші у північній півкулі займають шпилькові ліси, в яких Голонасінні абсолютно домінують [1, 2, 3].

Сучасні Голонасінні — це вічнозелені і листопадні деревно-чагарникові рослини, що досить широко представлені у флорі різних природних зон Землі та активно використовуються в озелененні населених пунктів. Зараз жоден парк у будь-якому місті України не можна уявити без шпилькових дерев (*Pinopsida*), або інших представників цього відділу. Вони є важливим елементом ландшафтної архітектури і зеленого будівництва. Вічнозелені шпилькові породи особливо декоративні взимку, коли листопадні дерева і кущі не конкурують з ними [4, 5].

До дендрофлори міста відносяться ті деревно-чагарникові рослини, що вільно зростають чи культивуються у відкритому ґрунті [6, 7].

Місто Одеса (засновано у 1794 році) розташовано на Північно-Західному узбережжі Чорного моря. Це адміністративний, промисловий, культурно-науковий і бальнеологічний центр Півдня України з населенням більше одного мільйону мешканців. Для міста гостро стоїть питання відновлення курортної зони, біологічної рекультивації забруднених територій і створення нових зелених зон відпочинку для населення [5].

У ґрутовому покриві району досліджені переважають залишкові темно-каштанові слабо й середньо солонцюваті ґрунти. На узбережжях лиманів та їх пересипів трапляються солончаки, а на пересипах — дернові малорозвинені піщані та піщано-черепашкові ґрунти. Клімат у місті аридний, сприятливий для трав'янистої рослинності. В степовій зоні нараховується 6 аборигенних видів деревно-чагарниковых рослин [8]. З них Голонасінних — один вид (*Ephedra distachya* L.).

Об'єкти і методи дослідження

Об'єктом дослідження було визначення особливостей тих представників відділу Голонасінні, які культивуються чи вільно зростають на території міста Одеси. Предметом дослідження був сучасний видовий склад дендрофлори Голонасінних міста.

Матеріал щодо складу дендрофлори Голонасінних збирали екскурсійно-маршрутним методом. Інформацію про види, які зустрічаються тільки у колекції Ботанічного саду, але відсутні в озелененні міста, було отримано після ознайомлення з колекціями та з літературних джерел [9]. Проведено систематичний аналіз всіх визначених видів рослин [10, 11, 12, 13], аналіз життєвих форм [2, 3, 11, 12] та екобіоморф [14, 15]. Проаналізовано дані про походження і природні ареали кожного виду [1, 2, 3, 11, 12]. Газо- і димостійкість визначали за даними літературних джерел [3, 7, 11, 12] і власних спостережень. Сучасні назви рослин та кількість видів і родів, що зустрічаються на території України, наведено за М. А. Кохном [6], кількість видів і родів Голонасінних у світовій флорі — згідно інших джерел [10, 11, 12].

Одержані результати та їх обговорення

Голонасінні міста Одеси представлені 95 видами з 24 родів, 7 родин, двох класів. Результати систематичного аналізу наведено у таблиці 1. Дані про кількість родів і видів Голонасінних у світі наведено за [2, 3, 10, 11, 12], в Україні — за [6], в Одесі — за результатами власних досліджень.

Таблиця 1
Систематичний аналіз представників відділу Голонасінні
у дендрофлорі м. Одеси

Родина	Кількість родів			Рід	Кількість видів		
	В світі	В Україні	В Одесі		В світі	В Україні	В Одесі
<i>Ginkgoaceae</i> Engl. – Гінкгові	1	1	1	<i>Ginkgo</i> L. – гінкго	1	1	1
<i>Cephalotaxaceae</i> Neg. – Головчастотисові	2	1	1	<i>Cephalotaxus</i> Sieb. et Zucc. ex Endl. – головчастий тис	5 - 8	1	1
<i>Cupressaceae</i> Rich. ex Bartl. – Кипарисові	10	9	8	<i>Calocedrus</i> Kurz – річковий кедр	3	2	1
				<i>Chamaecyparis</i> Spach – кипарисовик	6 - 7	4	2
				<i>Cypressus</i> L. – кипарис	12 - 19	11	3
				<i>Juniperus</i> L. – яловець	60 - 70	22	18
				<i>Microbiota</i> Kom. – мікробіота	1	1	1

Закінчення таблиці 1

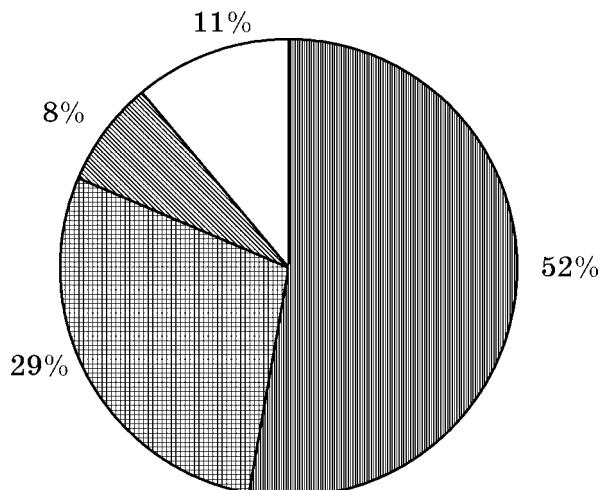
Родина	Кількість родів			Рід	Кількість видів		
	В світі	В Україні	В Одесі		В світі	В Україні	В Одесі
				<i>Platycladus</i> Spach. – широкогілочник	1	1	1
				<i>Thuja</i> L. – тuya	5 - 6	3	2
				<i>Thujopsis</i> Sieb & Zucc. – туйовик	1	1	1
<i>Ephedraceae</i> Dum. – Хвойникові	1	1	1	<i>Ephedra</i> L. – ефедра	40 - 42	8	3
<i>Pinaceae</i> Lindl. – Соснові	10 - 11	8	7	<i>Abies</i> Mill. – ялиця	40 - 50	17	14
				<i>Cedrus</i> Trem. – кедр	4	4	3
				<i>Larix</i> Mill. – модрина	20	13	4
				<i>Picea</i> A. Dietr. – ялина	45	20	10
				<i>Pinus</i> L. – сосна	80 - 100	49	21
				<i>Pseudotsuga</i> Carr. – псевдотсуга	5 - 8	1	1
				<i>Tsuga</i> Carr. – тсуга	10 - 14	2	1
<i>Taxaceae</i> S. F. Gray – Тисові	3 - 5	2	1	<i>Taxus</i> L. – тис	8	5	2
<i>Taxodiaceae</i> Neger – Таксодієві	9 - 10	6	5	<i>Cryptomeria</i> Don. – криптометрія	1	1	1
				<i>Metasequoia</i> Hu et Cheng – метасеквоя	1	1	1
				<i>Sequoia</i> Endl. – секвоя	1	1	1
				<i>Sequoiadendron</i> Buch. – секвоядендрон	1	1	1
				<i>Taxodium</i> Rich. – таксадій, або болотний кипарис	3 - 5	2	1

Найбільшою кількістю родів у флорі світу і України представлена родини *Pinaceae*, *Cupressaceae*, *Taxodiaceae*. В Одесі на першому місці знаходиться родина *Cupressaceae*.

Найбільше видів у світовій флорі і флорі України налічується в родах *Pinus*, *Juniperus*, *Picea*, *Abies*. У флорі міста лише два останніх роди за кількістю видів міняються місцями, що пов'язано з направленою інтродукційною роботою Ботанічного саду.

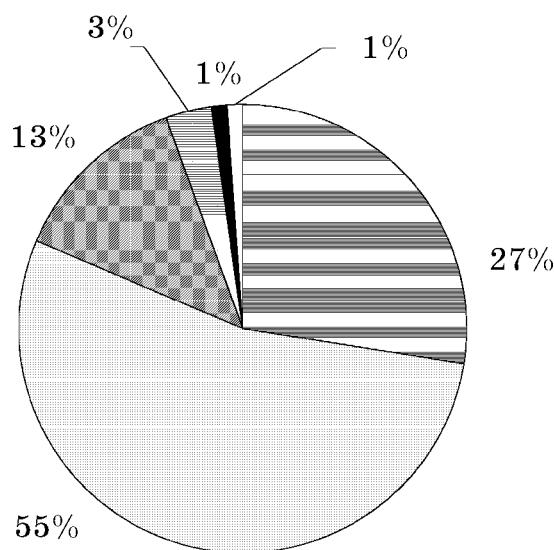
Широко представлені монотипні роди, представники яких є цінними екзотами: *Cryptomeria*, *Ginkgo*, *Metasequoia*, *Microbiota*, *Platycladus*, *Sequoia*, *Sequoiadendron*, *Thujopsis*.

Аналіз екобіоморф показав, що серед геліоморф (рис. 1) переважає геліофітна фракція (81%), рослини сциофітної фракції складають 19% видів. Серед гігроморф (рис. 2) найбільше мезофітів (55%). Гігрофітів і гігромезофітів виявлено по одному виду: *Taxodium distichum* L. — таксондій звичайний і *Pinus sylvestris* L. — сосна звичайна.



■ — геліофіти ▨ — сциогеліофіти △ — геліосциофіти □ — сциофіти

Рис. 1. Спектр геліоморф дендрофлори Голонасінних міста Одеси

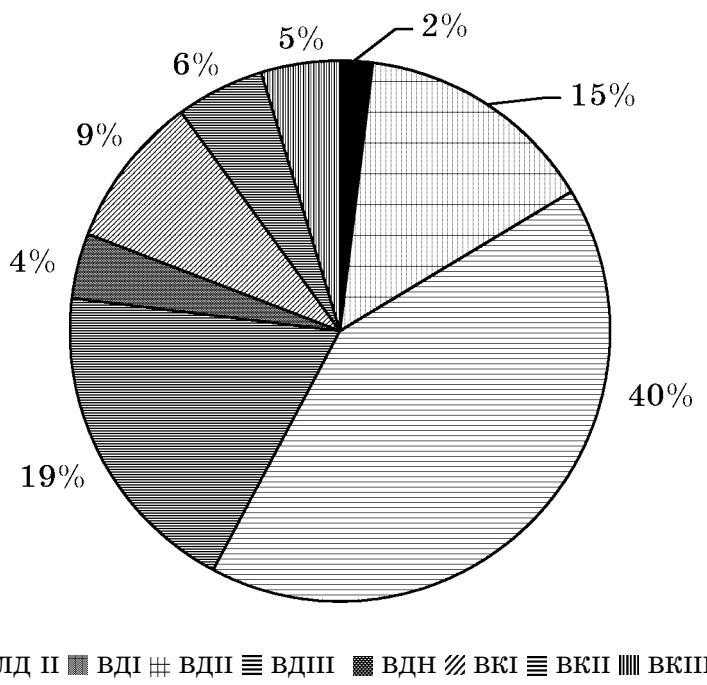


■ — ксеромезофіти ▨ — мезофіти △ — мезоксерофіти
▨ — ксерофіти ■ — гігрофіти □ — гігромезофіти

Рис. 2. Спектр гігроморф дендрофлори Голонасінних міста Одеси

Таким чином, типовим представником Голонасінних у флорі міста Одеси є геліофіт (по відношенню до світла) і мезофіт (по відношенню до вологості). Це пов'язано з тим, що майже всі об'єкти зеленого будівництва у місті зрошуються, до того ж щільні групи дерев змінюють мікроклімат на більш вологий.

Аналіз складу життєвих форм флори Голонасінних представлено на рис. 3.



■ ЛД ІІ ■■ ВДІ ■■■ ВДІІ ■■■■ ВДІІІ ■■■■■ ВКІ ■■■■■■ ВКІІ ■■■■■■■ ВКІІІ

Умовні позначення:

ЛД — листопадне дерево, ВД — вічнозелене дерево, ВК — вічнозелений кущ.
Для дерев (ВД і ЛД) висота: Н — 5–7 м, III — 7–14 м, II — 15–24 м, I — >25 м.
Для кущів (ВК) висота: III — 0,5–1 м, II — 1–2,5 м, I — >2,5 м.

Рис. 3. Спектр життєвих форм дендрофлори Голонасінних міста Одеси

З рисунка видно, що у дендрофлорі переважають види з життєвою формою вічнозелене дерево висотою 15–24 м. Найменше листопадних дерев: *Metasequoia glptostroboides* Hu et Cheng (метасеквоя розсіченошишкова) і *Ginkgo biloba* L. (гінкго дволопатеве). Серед кущів переважають ті види, представники яких вищі за 2,5 м.

Це пов'язано з тим, що у зеленому будівництві міста для створення алей і живих огорож широко використовують високі дерева та високі чагарники.

Результати флорогенетичного аналізу представлено у таблиці 2.

Найбільшою кількістю видів представлені рослини з флори Циркумбореальної (40,6 %) і Східно-Азійської (24,4 %) областей та Області Скелястих гір (16,5 %).

Таблиця 2

Флорогенетичний аналіз Голонасінних дендрофлори міста Одеси

Одиниця флористичного районування	Кількість видів	% від загалу
Атлантично - Північноамериканська область	7	7,4
Ірано - Туранська область	8	8,4
Мадреанська область	4	4,2
Область Скелястих гір	10	10,5
Середземноморська область	6	6,3
Східно - Азійська область	17	18,0
Циркумбореальна область	26	27,4
Середземноморська і Ірано - Туранська області	2	2,1
Циркумбореальна і Ірано - Туранська області	3	3,15
Циркумбореальна і Східно - Азійська області	4	4,2
Циркумбореальна, Ірано - Туранська і Середземноморська області	3	3,15
Атлантично - Північноамериканська, Циркумбореальна, Мадреанська область і Область Скелястих гір	4	4,2
Голарктичне царство	1	1,0

Таким чином, найбільша кількість видів походить з Циркумбореальної області (до якої, в широкому розумінні, відноситься і регіон досліджень).

Аналіз стійкості рослин до забруднення повітря дозволив виділити 23 газо- і димостійкі види. Це *Calocedrus decurrens* Florin. (річковий кедр каліфорнійський), *Chamaecyparis lawsoniana* Parl. (кипарисовик Лоусонів), *Ginkgo biloba*, *Juniperus chinensis* L. (яловець китайський), *J. communis* L. (я. звичайний), *J. horizontalis* Moench. (я. горизонтальний), *J. sargentii* Tak. ex Koidz. (я. Саржента), *J. scopulorum* Sarg. (я. скельний), *J. virginiana* L. (я. віргінський), *Larix gmelinii* Rupr. (модрина Гмелінова), *L. leptolepis* Gord. (м. японська), *L. sibirica* Ledeb. (м. сибірська), *Microbiota decussata* Kom. (мікробіота перехреснопарна), *Picea asperata* Mast. (ялина шершава), *P. pungens* Engelm. (я. колюча), *Pinus ponderosa* Dougl. (сосна жовта орегонська), *Platycladus orientalis* Franco (широкогілочник східний), *Pseudotsuga menziesii* Franco (псевдотсуга Мензисова), *Taxus baccata* L. (тис ягідний), *Thuja occidentalis* L. (туя західна), *T. plicata* Don. (т. складчаста), *Thujopsis dolabrata* Sieb. & Zucc. (туйовик долотовидний), *Tsuga canadensis* Carr. (тсуга канадська).

Щодо відношення рослин до ґрунтів міста, то серед них кальцефілів виявилося вісім видів: *Abies numidica* De Lennoy (ялиця нумідійська), *Cryptomeria japonica* Don. (криптомерія японська), *Cupressus arizonica* Greene (кипарис аризонський), *Juniperus sabina* L. (яловець козачий), *Pinus halepensis* Mill. (сосна алепська), *P. koraiensis* Sieb. et Zucc. (с. корейська), *Taxus baccata*, *T. cuspidata* Sieb. et Zucc. (тис гострокінцевий).

Найчастіше у зеленому будівництві м. Одеси використовуються такі 14 видів: *Cedrus atlantica* (Endl.) Arn. (кедр атласький), *Ginkgo biloba*, *Juniperus excelsa* Bieb. (яловець високий), *J. sabina*, *J. virginiana*, *Metasequoia glyptostroboides*, *Picea abies* Karst. (ялина європейська), *P. glauca* Voss. (я. сиза), *P. pungens*, *Pinus pallasiana* Don. (сосна Палласова), *Platycladus orientalis*, *Pseudotsuga menziesii*, *Taxus baccata*, *Thuja occidentalis*.

Таким чином, найбільш пристосованим до умов міста за газостійкістю і відношенням до складу ґрунту є *Taxus baccata*.

Висновки

Голонасінні у флорі міста Одеси представлені 95 видами з 24 родів 7 родин двох класів. Найбільше видів у родах *Pinus* L. (21) та *Juniperus* L. (18).

Типовим представником Голонасінних у флорі міста Одеси є геліофіт (геліоморфа) і мезофіт (гігроморфа). У дендрофлорі міста переважають види з життєвими формами вічнозелене дерево (15–24 м) і вічнозелений кущ (>2,5 м).

Найбільшою кількістю видів представлені рослини з Циркумбореальної (40,6 %) і Східно-Азійської (24,4 %) областей та Області Східно-Східних гір (16,5 %).

23 види рослин є газостійкими, 8 видів — кальцефіли, 14 видів широко використовуються у зеленому будівництві. Найбільш пристосованим до умов міста є *Taxus baccata* L. — тис ягідний.

Література

1. Тахтаджян А. Л. Флористические области Земли. — Л.: Наука, 1978. — 248 с.
2. Щепотьев Ф. Л. Дендрология. — К.: Выща школа, 1990. — 287 с.
3. Липа О. Л. Дендрологія з основами акліматизації. — К.: Вища школа, 1977. — 224 с.
4. Лаптев О. О. Інтродукція та акліматизація рослин з основами озеленення. — К.: Фітосоціоцентр, 2001. — 128 с.
5. Коваленко С. Г., Бонецкий А. С. Парки над морем. — Одеса: Маяк, 1985. — 92 с.
6. Кохно М. А. Каталог дендрофлори України. — К.: Фітосоціоцентр, 2001. — 72 с.
7. Дендрофлора України. Дикорослі та культивовані дерева й кущі. Голонасінні. — К.: Вища школа, 2001. — 205 с.
8. Крицька Л. І. Аналіз флори степів та вапнякових відслонень Право-бережного злакового степу // Укр. ботан. журн. — 1985. — Т. 42, № 2. — С. 1–5.
9. Жаренко А. З., Бонецкий А. С., Филатова С. А. Ботанический сад Одесского университета. — К. — Одеса: Выща школа, 1980. — 56 с.
10. Определитель высших растений Украины. — К.: Наук. думка, 1987. — 548 с.
11. Деревья и кустарники, культивируемые в Украинской ССР. Голосеменные. — К.: Наук. думка, 1985. — 200 с.
12. Крюссман Г. Хвойные породы. — М.: Лесн. пром., 1986. — 256 с.
13. Кузнецов С. І., Маринич І. С., Пожиличенко О. П., Клименко Ю. О. Каталог різновидів, культиварів та форм деревних та кущових рослин. — Ч. 1: Голонасінні (Полісся, Лісостеп та Карпати України). — К.: Фітосоціоцентр, 2002. — 31 с.
14. Екофлора України. — Т. 1 / Відпов. ред. Я. П. Дідух. — К.: Фітосоціоцентр, 2000. — 284 с.
15. Лаптев О. О. Екологія рослин з основами біоценології. — К.: Фітосоціоцентр, 2001. — 144 с.

B. V. Немерцалов

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра ботаники,
Шампанский пер., 2, Одесса, 65058, Украина

ГОЛОСЕМЕННЫЕ В ДЕНДРОФЛОРЕ Г. ОДЕССЫ

Резюме

Дан систематический, флорогенетический и экобиоморфологический анализ представителей отдела Голосеменные, встречающихся в дендрофлоре г. Одессы. Приведена информация об их экологических особенностях (газо- и дымостойкость, отношение к составу почв). Представлен список растений, широко используемых в зелёном строительстве.

Ключевые слова: дендрофлора, Голосеменные, город Одесса.

V. V. Nemertsalov

Odessa National Mechnikov University,
Botany department,
Shampanskiy per., 2, Odessa, 65058, Ukraine

GYMNOSPERMS IN ODESSA CITY DENDROFLORA

Summary

It was given the systematical, florogenetical and ecobiomorphological analysis of representatives of Gymnosperm division belonged to Odessa dendroflora. The information about their ecological peculiarities (smogstable, the attitude to soil composition) has been presented. The list of the plants widely used in green building has been submitted.

Keywords: dendroflora, Gymnosperm, Odessa city.

**ГІДРОБІОЛОГІЯ
І ЕКОЛОГІЯ**



УДК 597.2/.5(282.243.76)(285.2)

В. В. Заморов¹, канд. биол. наук, доц., Ю. Н. Олейник², канд. биол. наук, доц., М. М. Джуртубаев¹, канд. биол. наук, доц.

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,

¹ кафедра гидробиологии и общей экологии,

² кафедра зоологии

ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ЕСТЕСТВЕННОЕ ВСЕЛЕНИЕ БЫЧКА-КРУГЛЯКА *NEOGOBius MELANOSTOMUS* (PALLAS) В ПРИДУНАЙСКИЕ ОЗЕРА

Установлен факт проникновения бычка-кругляка в придунайские водоемы. Приводится характеристика размерно-массовых и меристических показателей, возрастного и полового состава. Рассматриваются вопросы экологической пластиичности вида.

Ключевые слова: *Neogobius melanostomus*, расселение, придунайские озера.

Бычок-кругляк *Neogobius melanostomus* (Pallas) относится к прибрежным эвригалинным эвритермным видам рыб и является представителем "понтической реликтовой фауны". Экспансия кругляка за последние 15 лет охватила многие водоемы вне пределов его естественного ареала (Северная Америка, Балтийское море) [1]. В бассейне северо-западной части Черного моря его распространение охватывает и основные русла рек Днестр, Днепр, Дунай. При этом до последнего времени было неизвестно о его присутствии в примыкающих к ним водоемах.

Однако, в ситуации, когда в прирусловых водоемах (озера, лиманы) отмечается уменьшение численности аборигенных промысловых бентосоядных видов рыб (карась серебряный, лещ, сазан), интервенция и натурализация бычка-кругляка в них — это лишь вопрос времени. Учитывая способность бычка-кругляка многократно нереститься в течение всего теплого периода времени, активную защиту потомства со стороны самца, агрессивность в нерестовый период, использование широкого спектра кормов, присутствие данного вида в придунайских озерах и лиманах может представлять собой серьезную как экологическую, так и хозяйственную проблему [2]. В связи с этим выяснение биологических особенностей бычка-кругляка, колонизирующего придунайские водоемы, возможности его натурализации, с последующей оценкой последствий его воздействия на аборигенные экосистемы и разработка мер по их урегулированию представляют несомненный научный и практический интерес.

Материал и методы исследования

Бычок-кругляк добыт в озерах Кугурлуй и Ялпуг при помощи промысловых орудий лова (вентеря) в мае — начале июня 2004 г.

Биологическому анализу подвергнуты 197 экземпляров. Рыбы взвешивались с точностью до 1,0 г, у них определяли полную и стандартную длину тела (в мм). Из представленной выборки кругляка 93 экземпляра (преимущественно самцы) подвергнуты морфометрическому анализу по известным методикам [3] с некоторыми изменениями. Все измерения проведены на свежем (нефиксированном) материале. При описании и морфометрии использовали 23 пластических и 5 меристических признаков. При описании пластических признаков мы следовали, в основном, обозначениям, приведенным в работе [4]. Схема измерений приведена на рис. 1. Из меристических признаков использовали число лучей в первом (D_1) и втором (D_2) спинных плавниках, анальном плавнике (A), грудном (P) и брюшных (V) плавниках. Подсчет числа лучей в грудных и брюшных плавниках проводили отдельно для правого и левого плавников с целью изучения ненаправленных изменений в билатеральных структурах, возникающих под воздействием факторов внешней среды (флуктуирующая асимметрия — ФА). Определение возраста проводили по отолитам.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследования, проведенные в 2001 г. в рамках международного проекта TACIS "Озера нижнего Дуная: устойчивое восстановление и сохранение естественного состояния и экосистем", по изучению промысловой ихтиофауны с использованием разночайших сетей (размер ячей 10–60 мм), неводов, вентерей, позволили установить присутствие 34 видов рыб. Тогда впервые в пресноводных прирусловых водоемах р. Дунай (озера Кугурлуй и Ялпуг) было добыто несколько особей бычка-кругляка.

В мае 2004 г. при проведении мониторинговых ихтиологических работ, связанных с контролем состояния придунайских озер и изучением причин массового заболевания карповых рыб, местными рыбаками нам был передан 51 экземпляр бычка-кругляка, а в июне еще 146 особей данного вида, добытых в этих озерах. Это первый случай массового отлова кругляка промысловыми орудиями лова (вентерями). Контрольные отловы Одесского центра Южного научно-исследовательского института морского рыбного хозяйства и океанографии весной 2004 г. указывают на значительную численность бычка-кругляка. Так, на одну бочку бычкового вентеря (диаметр ячей 22 мм) за сутки добывается 2 кг, или, в среднем, 30–40 экз. взрослых особей бычка-кругляка, представленного широким спектром возрастных групп, что позволяет предположить возможность реализации его высокого биологического потенциала.

Краткая морфологическая характеристика. В связи с расширением ареала бычка-кругляка в бассейне северо-западного Причерноморья представляет определенный интерес сравнение величины морфометрических характеристик особей из разных водоемов. Стандартная длина рыбы изменялась в широких пределах — от 72 до 155 мм при средней — 117,2 мм, что, в целом, соответствует размерам вида из разных районов Черного и Азовского морей. Модальное значение это-

Естественное вселение бычка-кругляка...

го параметра составило 120 мм. Максимальная масса кругляка из придунайских озер достигает 100 г при длине тела (L) 185 мм.

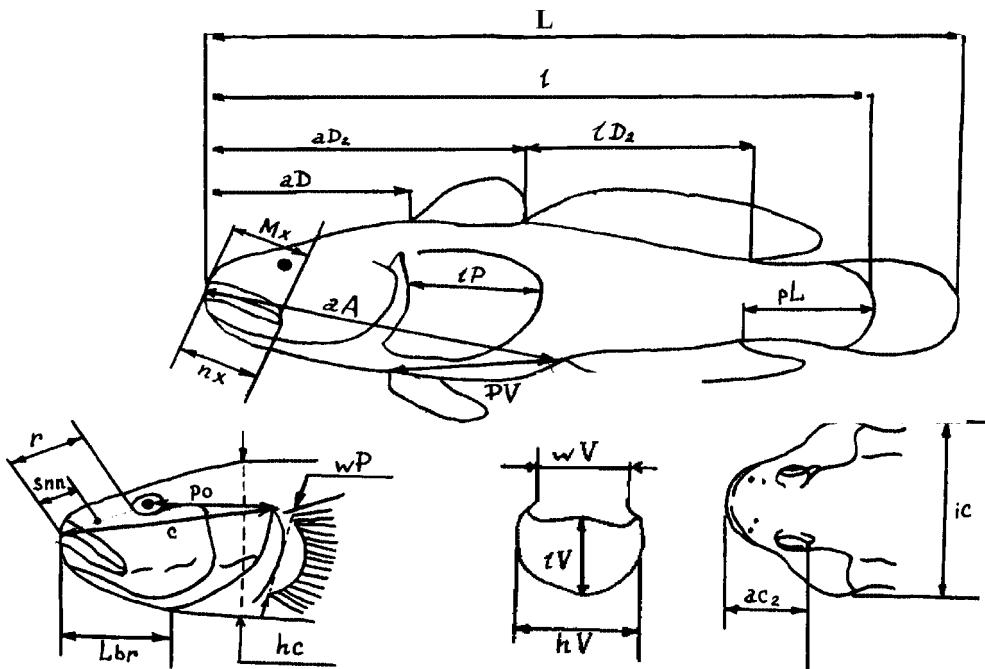


Рис. 1. Схема измерений и их обозначения у бычка-кругляка (по [3], с изменениями): L — полная длина тела; l — стандартная длина тела; pL — длина хвостового стебля; aD — антедорсальное расстояние; aD₂ — расстояние от вершины рыла до основания второго спинного плавника; aA — антеанальное расстояние; PV — расстояние между основаниями грудного и анального плавников; lD₂, lP — соответственно длина второго спинного и грудного плавников; IV, hV — соответственно длина и высота (ширина) брюшного плавника (присоски); mx — длина верхней челюсти; nx — длина нижней челюсти; hc — высота головы у затылка; с — длина головы; r — длина рыла; ac₂ — длина глазничного отдела (от вершины рыла до заднего края роговицы); po — заорбитальное расстояние; ic — наибольшая ширина головы; snn — расстояние от вершины рыла до ноздри; Lbr — длина основания черепа (от вершины рыла до места прирастания жаберной перепонки к перешейку); wP — ширина основания грудных плавников (между основаниями первого и последнего лучей); wV — ширина основания брюшных плавников

Меристические признаки исследованных нами 72 особей бычка-кругляка из придунайских озер и 71 экземпляра — из акватории о-ва Змеиный, расположенного в 40 км восточнее дельты р. Дунай (последние даны в квадратных скобках), следующие: D₁ (V) VI [(V) VI (VII)], D₂ I 15–17 [I 15–18], A I 12–14 [I (9) 11–15], P 17–19 [16–20], V I 5 [I (4) 5]. За исключением числа лучей в анальном плавнике (A), между этими группировками имеются лишь незначительные различия в размахе изменчивости ветвистых лучей плавников. Число ветвистых лучей в анальном плавнике бычка-кругляка из придунай-

ских озер существенно больше, чем у рыб, добытых в районе о-ва Змеиный. Размах вариабельности этого признака наибольший среди других исследованных нами меристических признаков. Величина ФА, ее дисперсия у бычка-кругляка из озер Ялпуг и Кугурлуй и в прилегающей к дельте морской акватории, находящейся в зоне выноса дунайской воды, существенно не различается. В то же время бычок-кругляк из более удаленных морских районов (Одесский залив) характеризуется по сравнению с исследуемой группировкой достоверно большей величиной ФА [5]. Последнее может служить косвенным подтверждением того, что в придунайских водоемах сложились оптимальные условия для обитания бычка-кругляка. Согласно [6] величина ФА у пойкилотермных животных обычно возрастает в условиях средового стресса.

Размерно-возрастной состав. Проанализированные особи принадлежали четырем возрастным группам. Бычки в возрасте 3-х лет (2 – 2+) составляли подавляющее большинство (70,5 %) и их размеры (L) колебались от 100 до 168 (в среднем 134,5) мм (табл. 1). Модальное значение стандартной длины тела в группе составило 120 мм., медиана — 135 мм. Четырехлетние особи (3 – 3+) составляли 27 %, их длина изменяется от 113 до 180 мм. Наиболее часто встречаемой размерной группой особей (модальной) в этой возрастной категории были бычки длиной 150 мм. Значение медианы (155 мм) сдвинуто в сторону крупных особей. Двухлетки (1+) и особи самой старшей возрастной категории (4) в исследуемой выборке представлены единичными особями.

Гонады всех исследованных особей преимущественно (82%) находились на третьей стадии зрелости. Готовые к размножению особи (самки, стадия зрелости 4) отмечены единично. Немногочисленны и завершившие нерест самцы (возраст 2 – 2+). Их доля среди особей, добытых в июне, не превышала 4,6 %. Половая структура выборки характеризуется резким преобладанием самцов. Самки в анализируемой пробе составляли не более 9 %. Самки кругляка чаще вступают в размножение в двухлетнем возрасте (1+), самцы — в трехлетнем (2–2+) [4]. В связи с этим можно предположить, что основу исследованной группы бычка-кругляка составили половозрелые особи.

Особенности экологии. Следует отметить высокую экологическую пластичность бычка-кругляка. Он встречается в водах разной степени минерализации — от олигогалинных (примерно 1‰) до эвгалинных (до 32 ‰).

Ему свойственна в определенной мере стойкость к дефициту кислорода: переносимые пороговые значения составляют 0,4–0,5 мг O₂/л [7]. В озерах Ялпуг и Кугурлуй кругляк находит вполне подходящие условия для своего существования: степень минерализации воды в данных водоемах составляет 0,4–1,5 ‰, а содержание кислорода в течение года колеблется в пределах от 6,5 до 17,9 мг O₂/л [8].

Широк и диапазон колебаний температуры, которые переносит кругляк в течении года (0–30 °C) [4]. Перепад температур в зависимости от сезона в озерах в среднем составляет от 3–5 °C (февраль) до 17–27 °C (июнь–август) [9].

Таблица 1

**Морфометрические параметры бычка-кругляка в озерах
Кугурлуй и Ялпуг**

Пара- метры	Число измеренных особей	Возраст (в годах)			
		1+ (n= 2)	2-2+ (n=139)	3-3+ (n=53)	4 (n=3)
L	197	96,5 (85 – 108)	134,5 ± 1,3 (100 – 168)	154,9 ± 1,6 (113 – 180)	182 (175-186)
l	197	81,5 (72 - 91)	113,3 ± 1,1 (82 - 143)	126,7 ± 1,4 (96 - 145)	153,3 (150-155)
aD	93	25,5 (22-29)	36,7 ± 0,4 (26 – 46)	39,3 ± 2,4 (36 – 48)	-
aD ₂	93	40,5 (36-45)	57,5 ± 0,6 (43 – 72)	62 ± 3,9 (48 -74)	-
aA	93	45,5 (41-50)	66,2 ± 0,7 (49 – 84)	69,8 ± 3,5 (59 – 79)	-
PV	93	25 (23-27)	32,5 ± 0,4 (23 – 43)	35,8 ± 2,5 (29 – 46)	-
lD ₂	93	27,5 (23-32)	38,6 ± 0,5 (28 – 48)	40,2 ± 2,7 (31 - 46)	-
lP	93	22 (20-24)	29,7 ± 0,3 (23 – 37)	30,5 ± 2,0 (25 - 37)	-
hV	93	8 (6-10)	14,0 ± 0,2 (9 – 19)	14,7 ± 1,4 (10 – 19)	-
Mx	88	-	9,7 ± 0,3 (6 – 15)	8,8 ± 1,0 (6 - 13)	-
hc	93	13 (11-15)	22,6 ± 0,3 (17 – 28)	24,0 ± 1,6 (19 - 28)	-
c	93	18,5 (14-23)	32,2 ± 0,4 (24 – 42)	34,0 ± 2,5 (26 – 42)	-
r	93	6,5 (6-7)	10,6 ± 0,2 (7 – 16)	11,5 ± 1,3 (8 - 17)	-
po	91	11,5 (10-13)	18,1 ± 0,3 (13 – 17)	21,2 ± 2,4 (14 - 31)	-
ic	93	14 (12-16)	23,7 ± 0,4 (16 – 32)	26,3 ± 2,4 (18 – 34)	-
pL	93	16 (14 – 18)	22,9 ± 0,3 (15 – 30)	23,7 ± 1,3 (20-28)	-
ac ₂	93	10,0 (9 – 11)	15,1 ± 0,2 (10,5 – 19)	16,3 ± 1,3 (13 – 21)	-
wP	93	9 (7-11)	14,7 ± 0,2 (10,5 – 19)	15,5 ± 1,3 (11 - 19)	-
wV	93	5 (4-6)	8,8 ± 0,1 (6 – 11)	9,6 ± 0,7 (7 - 11.5)	-

Примечание: обозначения см. рис. 1.

Кругляк в пресных водоемах предпочитает участки с замедленным течением, негустыми зарослями пресноводной растительности и с раз-

ным типом грунтов: от илистых, частично илисто-песчаных до каменистых. Спектр донных отложений в озерах Кугурлуй и Ялпуг отличается большой пестротой: от детритовых ракушняков и крупнозернистых, разнозернистых песков (редко с мелким галечником) до смешанных илов [10]. Особенno ярко проявляется это разнообразие в озере Кугурлуй.

Бычок-кругляк относится к видам, проявляющим заботу о потомстве, что увеличивает выживаемость молоди. Нерест порционный. Икра откладывается в гнездо, которое охраняется самцом. В качестве субстрата для откладки икры чаще всего служат камни, ракушняк. При наличии песчано-илистых грунтов, подобно тем, которые встречаются в Кугурлую и Ялпуге, кругляк устраивает "гнезда" на толстых стеблях растений [11].

Основу пищи кругляка в разных регионах составляют моллюски некрупных размеров. Поедает кругляк ракообразных, червей, рыбу. В пресных водоемах основным компонентом питания бычка является мелкая дрейссена [4; 12]. Присутствует она и в желудках бычка-кругляка из придунайских водоемов. По мнению некоторых авторов [13], интродукция дрейссены в пресные водоемы североамериканского континента была одной из причин, способствовавших расселению в них бычка-кругляка.

Филогенетические корни, распространение и экологические особенности бычка-кругляка связаны с древним морем Паратетис, отделившимся от моря Тетис в конце миоцена. В последующем, в процессе подвижек земной коры, Паратетис разделился на ряд крупных солоноватоводных водоемов (Черное, Азовское, Каспийское, Аральское моря). Исторический процесс развития Черного моря сопровождался существенной трансгрессией площади его водного зеркала, флуктуациями солености. Только в течение последнего миллиона лет выделяют от 5 до 8 фаз осолонения и опреснения [14]. В таких условиях формирование эвригалинности у бычка-кругляка — крайне необходимая адаптация к постоянно меняющимся условиям среды. Именно способность существовать в водах разной степени солености способствует расширению ареала этого вида.

Увеличение площади ареала кругляка в последние десятилетия происходит как за счет его проникновения в другие солоноватоводные водоемы (Балтийское море), так и в пресные водоемы (реки, озера Восточной Европы, Северной Америки). Формирующиеся при этом в пресных и опресненных водоемах группировки кругляка отличаются иными размерно — массовыми характеристиками, что дает основание некоторым авторам [15] подобного рода экологические формы считать даже отдельными *natio*.

Процесс расселения бычка-кругляка происходит как вследствие случайного перемещения его морскими судами (Северная Америка, Балтийское море), так и в результате самопроизвольного расселения во внутренние водоемы Украины и России. Анализ тенденций распространения бычка-кругляка позволяет предположить положительную роль человека в этом процессе. Рост минерализации воды, усиление пресса на потенциальных пищевых конкурентов кругляка в пресных водоемах создает благоприятные перспективы для дальнейшего рас-

Естественное вселение бычка-кругляка...

ширения ареала кругляка. Именно этими факторами можно объяснить естественное расселение кругляка в придунайские водоемы, где до начала нынешнего столетия он отсутствовал.

Учитывая особенности экологии и биологии бычка-кругляка, наличие необходимого комплекса условий для его существования в придунайских водоемах можно предположить, что уже в ближайшие годы кругляк может оказать негативное влияние на ихтиоценены прирусовых водоемов р. Дунай и причинить определенный экономический ущерб рыбному хозяйству.

Таким образом, мы имеем дело с очередным вселенцем в пределах бассейна северо-западной части Черного моря, что определяет актуальность проблемы изучения данного вида в новых условиях и разработки мероприятий по контролю его численности.

Выводы

1. Установлено расширение ареала бычка-кругляка в бассейне северо-западной части Черного моря в результате естественного вселения последнего в прирусовые водоемы р. Дунай.

2. Экологоморфологические характеристики бычка-кругляка в совокупности с наличием необходимого комплекса условий для его существования в придунайских водоемах создают реальную основу для натурализации данного вида в исследуемых озерах.

Авторы чрезвычайно признательны Н. П. Радионовой (Дунайская инспекция Госрыбохраны) за содействие в получении ихтиологического материала.

Литература

1. *Биологические инвазии в водных и наземных экосистемах*. — М.: Товарищество научных изданий КМК, 2004. — 436 с.
2. Заморов В. В., Джуртубаев М. М., Олейник Ю. Н., Радионова Н. П., Мединец В. И. Вспышка численности бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1811) в придунайских озерах // Актуальные проблемы сохранения устойчивости живых систем. Матер. VIII Междунар. научн. экологич. конф. г. Белгород, 27–29 сент. 2004 г. — Белгород: Изд-во БелГУ, 2004. — С. 66–67.
3. Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). — М.: Пиц. пром-сть, 1966. — 375 с.
4. *Фауна Украины*. Т. 8. Рыбы. Вып. 5. Окунеобразные (бычковидные), скорпенообразные, камбалообразные, присоскообразные, удильщикообразные / А. И. Смирнов — К.: Наук. думка, 1986. — 320 с.
5. Олейник Ю. Н., Заморов В. В., Радионова Н. П., Косенко С. Ю., Черников Г. Б. Морская и пресноводные формы бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* (Pallas) бассейна северо-западной части Черного моря // Современные проблемы зоологии и экологии (Матер. между. конф. посвящ. 140-летию основания Одес. нац. ун-та им. И. И. Мечникова, каф. зоологии ОНУ, Зоол. музея ОНУ и 120-й годовщины со дня рожд. засл. деятеля науки УССР, проф. И. И. Пузанова). — Одесса: Феникс, 2005. — С. 196–197.
6. Clarke G. M. Fluctuating asymmetry: a technique for measuring developmental stress of genetic and environmental origin // Acta Zool. Fennica. — 1992. — V. 191. — P. 31–35.
7. Сказкина Е. П. Некоторые особенности дыхания бычка-кругляка // Тр. АзЧерНИРО — 1964. — Вып. 22. — С. 125–131.

8. Деньга Ю. М., Мединец В. И. Гидрохимический режим и качество вод придунайских озер // Вісник ОНУ. — 2002. — Т. 7, вип. 2. Екологія. — С. 17–23.
9. Владимирова К. С., Зеров К. К. Физико-географический очерк придунайских лиманов // Тр. Ин-та гидробиологии. — 1961. — № 36. — С. 185–193.
10. Сучков И. А., Федорончук Н. А., Золотарева И. Г., Корнилов М. В., Мединец В. И. Батиметрическая съемка озер Ялпуг и Кугурлуй // Вісник ОНУ. — 2002. — Т. 7, вип. 2. Екологія — С. 33–36.
11. Ращеперин В. К. Экология размножения бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* (Pallas) // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Калининград, 1967. — 19 с.
12. Djuricich, P. and J. Janssen, 2001. Impact of Round Goby Predation on Zebra Mussel Size Distribution at Calumet Harbor, Lake Michigan // J. of Great Lakes Res. — 2001. — V. 27. — № 3. — P. 312–318.
13. Dillon A. K., Stepien C. A. Genetic and Biogeographic relations of the invasive round (*Neogobius melanostomus*) and (*Proterorhinus marmoratus*) gobies in the Great Lakes versus Eurasian populations // J. of Great Lakes Res. — 2001. — V. 27. — № 3. — P. 267–280.
14. Красилов В. А. Эволюция и биостратиграфия. — М.: Наука, 1977. — 256 с.
15. Пінчук В. І. Морська та лиманна форми бичка-кнута північно-західної частини Чорного моря // Доп. АН УРСР. — 1963. — № 1. — С. 126–128.

В. В. Заморов¹, Ю. М. Олійник², М. М. Джуртубаев¹

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,

¹ кафедра гідробіології та загальної екології

² кафедра зоології,

вулиця Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ПРИРОДНЕ ВСЕЛЕННЯ БИЧКА-КРУГЛЯКА *NEOGOBius MELANOSTOMUS* (PALLAS) У ПРИДУНАЙСЬКІ ОЗЕРА

Резюме

Встановлено проникнення бичка-кругляка у придунайські водойми. Наводиться характеристика розмірно-масових і меристичних показників, вікового і статевого складу. Розглядаються питання екологічної пластичності виду.

Ключові слова: *Neogobius melanostomus*, розселення, придунайські озера.

V. V. Zamorov¹, Y. N. Oleinik², M. M. Djurtubayev¹

Odessa National University,

¹ Departament of Hydrobiology and ecology

² Departament of zoOlogy

Dvoryanskaya St.2, Odessa, 65026, Ukraine

NATURAL INSTALLATION OF ROUND GOBY *NEOGOBius MELANOSTOMUS* (PALLAS) IN THE DANUBE LAKES

Summary

The appearance of round goby in the Danube lakes is registered. The characteristics of the size, weight and meristic data are given, including the age and the sexual structure. The questions of ecological plasticity are considered.

Keywords: *Neogobius melanostomus*, setting, the Danube lakes.

УДК 502.7(477-4)

**В. П. Стойловський¹, д-р біол. наук, зав. кафедри,
О. М. Попова² канд. біол. наук, доц.**

Одеський національний університет,

¹ кафедра зоології,

² кафедра ботаніки

вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

РЕЗУЛЬТАТИ ІНВЕНТАРИЗАЦІЇ ПРИРОДНО- ЗАПОВІДНОГО ФОНДУ ОДЕСЬКОЇ ОБЛАСТІ.

ІІ. ЗАКАЗНИКИ МІСЦЕВОГО ЗНАЧЕННЯ

У праці наведено аналіз стану природно-заповідного фонду (ПЗФ) Одеської області з категорії "заказники місцевого значення". На підставі експедиційних польових досліджень з'ясовано просторове розміщення заповідних об'єктів та зроблена оцінка стану флористичної та фауністичної різноманітності. Особлива увага надається видам рослин та тварин, які охороняються в рамках національних та міжнародних природоохоронних документів.

Ключові слова: заказник, середовище, флористичний та фауністичний склад.

Серед існуючих сьогодні 123 територій та об'єктів природно-заповідного фонду Одеської області (далі — ПЗФ) 26 є заказниками місцевого значення. З них більшість (17) було організовано до 1984 р., частина (6) — у 1993 р. За цей час відбулися значні зміни в оточуючому середовищі і стані природних екосистем області, що могло проявитися у зменшенні природоохоронної значимості. Сучасне природоохоронне законодавство України вимагає періодичного перегляду стану ПЗФ, у зв'язку з чим необхідне створення нового "Реєстру територій та об'єктів природно-заповідного фонду Одеської області", який має бути затверджений Обласною Радою народних депутатів. Тому виникла нагальна потреба інвентаризації природно-заповідного фонду області в цілому, в тому числі і заказників місцевого значення.

Метою даної роботи є аналіз сучасного стану заказників місцевого значення Одеської області і внесення відповідних змін до реєстру ПЗФ.

Матеріали і методика

В процесі виконання роботи провадилося вивчення картографічних і текстових документів державного лісовпорядкування (наданих співробітниками Одеського державного лісогосподарчого об'єднання "Одесаліс" безпосередньо в м. Одесі, а також держлісгоспами, лісництвами на місцях), картографічних загальнодоступних матеріалів (карти Оде-

ської області масштабом 1:200000 та 1:100000), матеріалів, наданих іншими землекористувачами. В процесі маршрутного обстеження території та природних комплексів з'ясовували їх флористичний та фауністичний склад, оцінювали стан рослинності та ландшафту. Визначення видового складу комах при встановленні цінності ентомологічних заказників проведено ст. викладачем кафедри зоології В. Ф. Микитюком та доц. С. П. Ужевською, стан рослинності і видову належність визначала доц. Попова Е.М. Одночасно з'ясовували нагальність проблемних питань, які потребують рішення з боку обласного Держуправління екології і природних ресурсів.

Зараз в Одеській області існують 17 ландшафтних, 4 ботанічних, 3 ентомологічних заказники, один лісовий та один орнітологічний. Їх опис наведено нижче відповідно їх цільовому призначенню.

ЛАНДШАФТНІ ЗАКАЗНИКИ

"Бендзарівський" заказник площею 30,0 га під назвою "Бендзарський ліс" створено у 1993 р. [1] на території ур. "Бендзарський ліс", яке розташоване поруч з с. Бендзари Балтського р-ну. Це, згідно з постановою обласної Ради (№ 496-ХХ1 від 01.10.93), "Урочище байрачного типу, в якому є рідкісні та зникаючі види рослин, в т. ч. занесені до Червоної книги України (шафран сітчастий, лілія лісова), зона рекреації".

Як свідчить обстеження 2003 р., даний лісовий масив знаходиться у поганому стані, у ньому багато сухих дерев та гілок. Рілля доходить до безпосередніх меж урочища, що є порушенням законодавчих норм. Поруч з лісом знаходиться потенційна зона рекреації — неоводнені зараз ставки. Територія потребує упорядкування. У зв'язку з цим пропонується змінити загальну характеристику заказника на таку: "Лісове урочище байрачного типу з рідкісними та зникаючими видами рослин, поруч з яким знаходиться ділянка, придатна до рекреації."

"Березівський" заказник площею 1503,00 га створено у 1980 р. [2], пере затверджено у 1984 р. [1]) на території урочища "Березівка", що розташоване у кв. 53-83 Будейського лісництва Кодимського держлісгоспу у Кодимському р-ні біля с. Федорівка. Це "лісовий масив на межі Лісостепу і Степу з віковими дубами та єдиними в області насадженнями берези" [3]. "Заказник має велике ґрунтозахисне та водозахисне значення. Багатий на флуору та фауну. Тут ростуть також рідкісні та зникаючі види" [2]. Під назвою "Урочище Березівське" цей заказник існував ще до 1969 р. [4].

Відповідно до матеріалів останнього державного лісовпорядкування змінилися номери кварталів, у яких розташоване ур. "Березівка" (тепер це кв. 76-106) і уточнена його площа (1534 га). Урочище являє собою залишки природного дубового лісу. Природних насаджень берези на його території немає (в Одеській області вони взагалі відсутні.). Лише біля ставка росте декілька штучно насаджених дерев берези.

У зв'язку з цим ми пропонуємо змінити назву заказника на "Кодимський" (через близьке розташування до смт. Кодима), до того ж існуюча назва співпадає з найменуванням іншого урочища — "Березівський ліс", яке знаходиться у смт. Березівка і яке само по собі є перспективним для заповідання) та його загальну характеристику у реєстрі ПЗФ Одеської області на таку: "Цінне природне лісове урочище з ділянками дуба черешчатого та скельного, рідкісними рослинами та угрупованнями, в тому числі з Червоної та Зеленої книг України". В цілому заказник знаходиться у задовільному стані.

"Верхній ліс" заказник площею 380,00 га організований у 1972 р. [2], перезатверджений у 1984 р. [1]), на території кв. 1–8 Северинівського лісництва Ширяївського лісгоспу у Іванівському адміністративному р-ні біля с. Северинівка. Це дубово-ясеневе ґрунтозахисне насадження, створене у степовій зоні у 20-роках нашого століття [2, 3]. Існувало ще до 1969 р. на площі 287 га [4].

Відповідно до матеріалів останнього лісовпорядкування, заказник знаходиться у 9–17 кв. Северинівського лісництва. В цілому цей лісовий масив знаходиться у задовільному стані. Вважаємо за доцільне збереження категорії та інших характеристик заказника.

"Виноградівка" заказник площею 297,00 га організовано у 2001 р. [1] на території ур. Владичень, яке розташовано у кв. 25–27 Болградського лісництва Ізмаїльського держлісгоспу у Болградському р-ні між с. Виноградівка та с. Владичень. У Рішенні обласної Ради щодо організації заказника (№ 263-ХХІІІ від 9.02.2001 р.) він характеризується як "ділянки степу, що збереглися у відносно природному стані. Тут виявлено рідкісні види плавунів (полоз жовтобрюхий, кримська ящірка) та деяких рослин".

Як свідчать дані державного лісовпорядкування, сумарна площа трьох кварталів становить 267 га. До того ж, як відомо, у веденні державних лісових господарств знаходяться переважно деревні насадження. Фактичне переважання на території кв. 25–27 деревних насаджень, яке встановлено власними дослідженнями авторів, вимагає зміни загальної характеристики об'єкта на таку: "Штучні деревні насадження, серед яких є ділянки степу з рослинами з Червоної книги України".

"Даничеве" заказник площею 354,00 га створено у 1993 р. [1] на території урочища Даничеве, що розташовано у кв. 47–51 Піщанського лісництва Балтського держлісгоспу у Балтському адміністративному районі біля с. Піщана. Це, за рішенням обласної Ради (№ 496-ХХІ від 01.10.93), "лісовий масив на межі степової і лісостепової зон, має чимале природоохоронне і рекреаційне значення. Єдине в області місце зростання вікових сосен. Зустрічаються рідкісні та зникаючі види флори і фауни".

Фактично це урочище штучно створене у період боротьби з піщаними бурями. Основну його естетичну і рекреаційну цінність становлять вікові насадження сосни звичайної, яка має природний ареал за межами Одеської області. На період досліджень рідкісних видів рос-

лин та тварин не знайдено. Пропонується змінити характеристику заповідної території на таку: "Штучний лісовий масив з ділянками вікових сосен, який має велике естетичне і рекреаційне значення." Цей масив знаходиться в задовільному стані. Через його велику естетичну цінність доцільно підвищити його категорію до "ландшафтний заказник загальнодержавного значення".

"Діброва болотного дуба" заказник площею 21,40 га створено у 1973 р. [2], перезатверджено у 1984 р. [1] на території кв. 9 Біляївського лісництва Одеського держлігоспу у Біляївському районі біля с. Троїцьке. Його описові характеристики дещо різняться: "Діброва віком 100 років у заплаві" [3] або "Насадження дуба в плавнях. Має наукове, природоохоронне (як місце гніздування птахів) значення" [2].

Як свідчить обстеження, стан заказника задовільний. Головною лісоутворюючою породою діброви є дуб звичайний — *Quercus robur* L. У зв'язку з тим, що існує вид дуб болотний (*Quercus palustris* Muench.), природний ареал якого знаходиться у Північній Америці і який культивується в Україні [5, 6], ми пропонуємо замінити назву ландшафтного заказника на "Заплавна діброва" та його характеристику на таку: "Штучне насадження дуба звичайного у заплаві р. Дністер".

"Діброва Могилевська" заказник площею 45,00 га створено у 1972 р. [1] в межах ур. Могилевське у кв. 3 Бородинського лісництва Саратського держлігоспу у Тарутинському р-ні біля с. Лісне. Це дубово-акацієве насадження 2-ої половини XIX ст. Під назвою "Урочище "Могильне" площею 41 га існувало до 1969 р. [4].

У цілому стан заказника задовільний. У зв'язку з тим, що дуб звичайний не являється головною породою в насадженні, пропонуємо змінити назву даного заказника на "Могілевський". Також у матеріалах реестру треба уточнити його площину (за даними лісовпорядкування вона становить 44 га) та характеристику: "Штучне дубово-акацієве насадження 2-ої половини XIX ст., у якому зустрічаються рідкісні рослини, в тому числі з Червоної книги України".

"Діброва Манзирська" (помилково чи не помилково названий у реєстрі ПЗФ, "Діброва Монастирська") площею 100,00 га створено у 1972 р. [1] в межах ур. Манзирське у кв. 4 Бородинського лісництва Саратського держлігоспу у Тарутинському р-ні біля с. Лісне. Цей заказник характеризується як "Еталон степового лісорозведення" [3] або "Дубове насадження у віці 125 років. Еталон степового лісорозведення" [2]. Під назвою "Урочище Монастирське" площею 101 га цей заказник існував до 1969 р. [4].

Як свідчать фактичні матеріали, ур. Манзирське біля с. Лісне на картах державного лісовпорядкування не існує. Крім ур. Могилевське (кв. 3) в околицях даного населеного пункту розташовані ур. Парк (яке займає кв. 1–2), ур. Старий Манзир (займає кв. 4) та ур. Анівський ліс (кв. 5). Ми вважаємо, що назва "ур. Манзирське" помилково вжита щодо ур. Парк, яке лежить найближче до с. Лісне (стара назва селища — "Манзир"). Тому у матеріалах реестру необхідно замінити

назву урочища (на "Парк"), номери кварталів за державним лісовпорядкуванням (на кв. 1–2) та площеу заказника (на 128 га), оскільки площа двох перших кварталів Саратського держлісгоспу становить саме 128 га. Доцільність такого висновку підтверджує той факт, що ботанічний заказник загальнодержавного значення "Староманзирський" знаходиться в межах ур. "Старий Манзир" (реєстр). Урочище "Старий Манзир" площею 100 га наведено серед об'єктів природи республіканського значення ще у 1969 р. [4]. Крім цього, ми пропонуємо змінити назву заказника на "Паркове" у зв'язку з назвою урочища. Через те, що дуб звичайний не є головною породою в даному урочищі, треба виключити з назви слово "Діброва".

"**Заводівський**" створено на площи 93,00 га у 1980 р. [1] в ур. Заводівка, яке займає кв. 3–5 Березівського лісництва Березівського держлісгоспу у Березівському адміністративному районі біля с. Заводівка. Він представляє собою "лісові насадження уздовж р. Тилігул, які мають велике ґрунто-, водозахисне та рекреаційне значення. Рослини характерні для даної зони породи дерев та чагарників. Концентруються дики тварини та птахи" [2] або "південні байрачні насадження" [3].

У зв'язку з тим, що даний заказник представляє собою штучні лісові насадження з дуба звичайного, клена гостролистого, акації білої, ясена зеленого, гледичії та ін., пропонуємо змінити його характеристику на таку: "Штучний лісовий масив, створений уздовж р. Тилігул із звичайних для насаджень степової зони видів дерев та чагарників. Має велике водозахисне, естетичне та рекреаційне значення." Ця територія знаходиться у задовільному стані і справляє гарне враження як об'єкт рекреації. Категорію заказника доцільно зберегти.

"**Каїрівський**" створено на площи 150,00 га у 1993 р. [1] на території ПСП "Україна" Комінтернівського р-ну біля с. Каїри. Сьогодні деревні насадження на його території передані до відома Красносільського лісництва Одеського головного підприємства "Одесаліс". Цей заказник представляє собою штучно створені лісові насадження і степові ділянки, на яких зустрічаються види рослин з Червоної книги України. Треба уточнити межі заказника, тому що його площа не відповідає площи в межах деревних насаджень.

"**Лиманський**" створено на площи 65,00 га у 1982 р. [1] "у кв. 7–8" Старокозацького лісництва Саратського держлісгоспу у Білгород-Дністровському адміністративному районі біля "с. Лиманське". Він представляє собою "лісовий комплекс, створений на еродованих землях уздовж Дністровського лиману. Має значне природоохоронне, рекреаційне значення" [2]. У [3] він характеризується як "південний байрачний ліс".

Як виявлено в процесі виконання наукової теми, заказник розташовано між с. Семенівка та Молога на березі Дністровського лиману у кв. 7. Площа даного кварталу становить 64 га (за матеріалами лісовпорядкування). Кв. 8 знаходиться далеко від ділянки, що розглядається, і представляє собою ур. Бикоза. Отже в матеріалах Реєстру

треба виправити номер кварталу, його площину та назву села, до якого найближче знаходиться заказник (Семенівка). У зв'язку з тим, що основу території складають саме штучні насадження лісових порід, вважаємо за доцільне зупинитися на першій характеристиці, наданій у [2]. На півдні з кварталом 7 Староказацького лісництва межує колишній колгоспний ліс (заяз у розпоряджені сільських рад), який доцільно додати до території заказника.

"Лунг" — заказник, який створено на площі 799,00 га у 2001 р. [1] поблизу сел Багате та Стара Некрасівка Ізмаїльського р-ну. Крім того, це водно-болотне угіддя місцевого значення з червонокнижними видами рослин і тварин, яке охоплює акваторію та узбережжя оз. Лунг. В зв'язку з тим, що загальна площа цього водно-болотного угіддя становить біля 1600 га, вважаємо за доцільне збільшити площину заказника до 1600 га.

"Новомиколаївський" організовано на площі 315,00 га у 1993 р. [1] на території птахорадгоспу "Новомиколаївський" (нині — ТОВ "Господар") Комінтернівського р-ну. Як виявлено нами за обстеження території, він являє собою штучні лісові насадження з акації білої, скумпії, сосни кримської та ін. на правому схилі долини р. Балай між заказником "Петрівський" та с. Новомиколаївка. Тут зустрічаються види, занесені до Червоної книги України та Червоного списку Одеської області. За попередніми даними, площа цих насаджень більша ніж 315 га, тому її необхідно уточнити.

В цілому вважаємо за доцільне збереження категорії заказника.

"Осінівський" створено на площі 531,0 га у 1980 р. [1] в межах ур. Осинівське, розташованого в кв. 1–2 Ширяївського лісництва Ширяївського держлісгоспу у одноіменному адміністративному районі біля с. Осинівка. Він становить собою "лісовий комплекс, створений на еродованих землях. Має природоохоронне, рекреаційне значення. Ростуть характерні для даної зони породи дерев, чагарників" [2]. Ми пропонуємо слова "лісовий комплекс" замінити в реєстрі на "цінний штучний лісовий масив". Згідно з останнім лісовпорядкуванням, цей масив розташований у кв. 13-20. Він знаходиться у задовільному стані. Вважаємо за доцільне збереження категорії та загальної характеристики заказника.

"Тополине" площею 68,0 га організовано у 2001 р. [1] на території кв. 28 Болградського лісництва Ізмаїльського держлісгоспу у Болградському р-ні між с. Виноградівка та с. Владичень. У Рішенні обласної Ради щодо організації заказника він характеризується як "ділянки степу, що збереглися у відносно природному стані. Тут виявлено рідкісні види плазунів (полоз жовтобрюхий, кримська ящірка) та деяких рослин".

Фактичне переважання на території кв. 26 штучних деревних насаджень, яке встановлено власними дослідженнями авторів, вимагає зміни загальної характеристики об'єкта на таку: "Штучні деревні насадження, серед яких є ділянки степу з рослинами з Червоної книги України".

"Фрасине" організовано на площі 421,0 га у 1980 р. ([1] в межах ур. Фрасине, розташованого в кв. 1-7 Великомихайлівського лісництва Великомихайлівського держлісгоспу в одноіменному адміністративному районі біля с. Трохимівка). Це "Байрачна діброва з лікарськими рослинами" [3] або "Ділянка байрачного лісу з характерними для даної зони рослинними угрупованнями. Має велике природоохоронне, рекреаційне значення" [2]. При обстеженні ми не знайшли ділянок природного байрачного лісу, тому ми пропонуємо замінити загальну характеристику урочища на таку: "Штурчний лісовий масив з різноманітним видовим складом рослин, в тому числі лікарських".

"Шептереди" площею 1016,0 га створено у 1978 р. [1] на території ур. "Шептереди", яке розташовано у кв. 23-42 Павлівського лісництва Великомихайлівського держлісгоспу у Фрунзівському р-ні біля смт Фрунзівка. Це "Урочище байрачних лісів [3], де росте значна кількість багатьох видів лікарських рослин" [2], "є значна кількість видів рослин і тварин, цінних, рідкісних і зникаючих" (Рішення Облради № 496-ХХ1 від 01.10.93).

Як свідчать наші спостереження, це дуже цінний байрачний ліс з мальовничими краєвидами. Він знаходиться у задовільному стані. Пропонуємо уточнити загальну характеристику заказника; "Дуже цінний лісовий масив, який характеризується значною фіторізноманітністю; тут є цінні деревні породи (бархат амурський), мальовничі галечини з ділянками лучного степу, на яких збереглися рідкісні види рослин, в тому числі з Червоної книги України".

БОТАНІЧНІ ЗАКАЗНИКИ

"Калинівський" площею 92,0 га організований у 1993 р. [1] на землях ТОВ "Промінь" в межах Комінтернівського р-ну біля с. Калинівка. Це урочище, в якому збереглося понад 20 видів рідкісних та зникаючих рослин, в т. ч. занесених до Червоної книги України (Рішення облради № 496-ХХ1 від 01.10.1993 р.), та рідкісні фітоценози. Деякий час тому деревні насадження в районі заказника були передані Красносільському лісництву Одеського головного підприємства "Одесаліс". До відома лісництва відносяться і вільні від деревних насаджень ділянки. Необхідно уточнити землекористувача заказника, його площе і межі. В Калинівської сільській ради у тому місці, де розташовано заказник набагато менше ніж 92 га, які вказані в документах для заказника.

"Костянська балка" — заказник, створений на площі 22,7 га у 1993 р. [1] "між с. Єгорівка та Калантаєвка" на землях АТ ім. Калініна та КСП ім. Кірова. В минулому він являв собою "балку, де зростали 18 видів рідкісних та зникаючих видів рослин, в т. ч. занесені до Червоної книги України (голонасінник одеський, астрагал шерстистоквітковий тощо)" (рішення Облради № 496-ХХ1 від 01.10.93).

Як показали наші спостереження, фактично балка знаходиться між селами Єгорівка та Мале, на землях запасу Єгорівської сільської ради. Зараз площа заказника значно зменшилася (майже втричі) через дачне будівництво. Проте тут збереглася досить значна видова різноманітність рослин, серед яких є види з Червоної книги України Червоного списку Одеської області. Тут також зустрічаються рослинні угруповання з Зеленої книги України (формації ковили волосистої та мигдалю низького). Тому ми пропонуємо зберегти категорію заказника, відкоригувати його площу та змінити загальну характеристику на таку: "Балка з залишками різноманітної степової петрофітної рослинності, серед якої — 18 видів судинних рослин з Червоної книги України та рослинні угруповання з Зеленої книги України".

"Ліски" площею 107,00 га створено у 1978 р. [1] у кв. 7 Вилківського лісництва Ізмаїльського держлігоспу у Кілійському р-ні біля м. Вилкове. Заказник являє собою "ґрунтозахисні лісонасадження на рухливих пісках, в яких зустрічаються види рослин, занесені до Червоної книги України [2]) та "зарості обліпихи" [3]. Сьогодні цей заказник знаходиться на території Дунайського біосферного заповідника. За даними державного лісовпорядкування, всі ділянки кв. 7 (№ 1–15) засаджені деревними породами, основними з яких є сосна кримська, тополя, обліпиха. Полян тут немає. За даними ботаніка Дунайського заповідника О. Жмуд (усне повідомлення), червонокнижні види рослин тут відсутні. До того ж більшість видів рослин з Червоної книги України, які зустрічаються на території Дунайського біосферного заповідника, ростуть на безлісних ділянках. На основі вищезазначеного ми пропонуємо змінити категорію заказника на "ландшафтний" та замінити його загальну характеристику у Реєстрі на таку: "Грунтозахисні насадження на пісках, головним чином сосни кримської, тополі, обліпихи."

Пропонується змінити назву заказника на "Вилковські піски" у зв'язку з тим, що існуюча назва, по-перше, збігається з назвою урочища, яке знаходиться поблизу м. Одеси, по-друге, вона дезорієнтує при пошуку місцезнаходження цього заказника (біля с. Ліски Кілійського р-ну).

"Ліснічівка" площею 3176,0 га створено у 1984 р. [1] на території ур. "Ліснічівка", яке розташоване у кв. 1–52 Ліснічівського лісництва Балтського держлігоспу у Балтському р-ні біля с. Ліснічівка. Це "Один із великих лісових масивів на кордоні степової та лісосуперечкої зон України. Має велике ґрунтозахисне, наукове значення. На урочищі знаходяться ділянки з еталонними дубовими насадженнями. Зустрічаються дуб скельний, цінні лікарські рослини" [2], "Один із найбільших лісових масивів" [3].

За нашими багаторічними спостереженнями, це один з найцінніших лісових масивів Одеської області (якщо не найцінніший). Він характеризується найбільшою флористичною різноманітністю. Більша частина його території знаходиться в задовільному стані, але тут проводяться суцільні рубки, що зменшує його цінність. Через те, що

тут зростає багато видів рослин з Червоної книги України, пропонуємо змінити загальну характеристику заказника на таку: "Один із найбільших і цінних лісових масивів лісостепової зони, в якому збереглися ділянки з віковими дубами, і де зростає багато рідкісних видів рослин, в тому числі з Червоної книги України." Слід підвищити статус заказника — зробити його ботанічним заказником загальнодержавного значення.

ЕНТОМОЛОГІЧНІ ЗАКАЗНИКИ

"Жовтневий" — заказник площею 15,0 га створено у 1983 р. на землях колгоспу ім. Леніна Болградського р-ну, в околицях с. Жовтневе. В обґрунтуванні необхідності створення відмічається що це "Місце оселення диких бджіл-запилювачів" [3] та "Ділянка насінників багаторічних трав". Заказник створений з метою збільшення чисельності цінних запильників сільськогосподарських культур — диких бджіл [2].

Обстеження 2003 р. не виявили оселень диких бджіл, як і ділянки насінників багаторічних трав, спеціально створеної для збільшення їх чисельності. Зараз територія заказника становить собою штучні деревні насадження, серед яких є ділянки степу з рослинами з Червоної книги України та Червоного списку Одеської області (тут зафіксовано 7 таких видів), іншими рідкісними для регіону видами. За нашими даними, тут зустрічаються фрагменти не менше 8 асоціацій з Зеленої книги України [7]. Тому ми пропонуємо змінити категорію заказника на "ботанічний", уточнити землекористувача (Жовтнева сільська рада) та змінити його загальну характеристику на таку: "штучні деревні насадження, серед яких є ділянки степу з рослинами з Червоної книги України, Червоного списку Одеської області та фітоценозами з Зеленої книги України".

"Коритнівський" площею 25,0 га створено у 1983 р. [1] на землях колгоспу ім. Дзержинського (правонаступник — ПСП "Росава") Балтського р-ну, в околицях с. Коритне. Це "місце оселення диких бджіл-запилювачів" [3] або "Ділянка насінників багаторічних трав. Створений з метою збільшення чисельності цінних запильників сільськогосподарських культур — диких бджіл" [2].

Обстеження території заказника у 2003 р. не виявили оселень диких бджіл, як і функціонуючої ділянки насінників багаторічних трав, спеціально створеної для збільшення їх чисельності. Зараз територія заказника виглядає як сільгоспугіддя (точніше, рілля), на яких припинилася обробка ґрунтів майже десятиріччя тому. Тут не знайдено запилювачів, інших цінних видів комах, цінних видів дикорослих рослин тощо. Тому ми вважаємо, що ця територія повинна бути виключена з переліку ПЗФ Одеської області.

"Чегодарський" (повинно бути "Чегодарівський", тому що назва виникла по найменуванню населеного пункту) площею 25,00 га створено у 1983 р. [1] на землях колгоспу "Шлях до комунізму" (нині

правонаступник — ТОВ "Нива") Ширяївського р-ну, на околицях с. Мала Чегодарівка. Це "місце оселення диких бджіл-запилювачів" [3] або "Ділянка насінників багаторічних трав. Створений з метою збільшення чисельності цінних запильників сільськогосподарських культур — диких бджіл" [2].

Обстеження території цього заказника у 2003 р. також не виявили місцеперебування диких бджіл, як і функціонуючої ділянки насінників багаторічних трав, спеціально створеної для збільшення їх чисельності. Зараз територія заказника виглядає як сільгоспугіддя (точніше, рілля), на яких припинилася обробка грантів майже десятиріччя тому. Тут не знайдено запилювачів, інших цінних видів комах, цінних видів дикорослих рослин тощо. Тому ми вважаємо, що ця територія також повинна бути виключена з переліку ПЗФ Одеської області.

ЛІСОВИЙ ЗАКАЗНИК

"Сосновий ліс" організовано на площі 8,40 га у 1980 р. [1] в кв. 74 на ділянці 8 Слюсарівського лісництва Савранського держлісгоспу в однойменному адміністративному районі біля с. Слюсареве. Це "лісові культури сосни звичайної, створені у 50-ті роки на рухливих пісках" [2].

Більшість площин лісових культур була уражена кореневою губкою, сосну вирували, і зараз площа насаджень, що збереглися, становить 2,3 га і займає ділянку 7 кв. 74 (згідно з останнім лісовпорядкуванням). На вирубаній площині недавно були висаджені береза та акація біла. Зараз насадження сосни знаходяться у незадовільному фітосанітарному стані. Тому ми пропонуємо виключити цей об'єкт з переліку ПЗФ Одеської області.

ОРНІТОЛОГІЧНИЙ ЗАКАЗНИК

"Тилігульський пересип" створено на площі 390,00 га у 1983 р. [1] на землях Сичавської сільської ради у Комінтернівському р-ні. Він охоплює пересип Тилігульського лиману та прилеглу акваторію лиману і моря. Зараз цей заказник входить до складу Тилігульського регіонального ландшафтного парку. Це місце сезонних концентрацій та міграцій біля 70 % видів птахів України. Зустрічаються види птахів та рослин, занесені до Червоної книги України. Територія знаходиться у задовільному стані. Доцільне збереження її категорії.

Висновки

За результатами інвентаризації 26 заказників місцевого значення в Одеській області ми пропонуємо виключити з переліку ПЗФ 4 об'єкти. З останніх 22 територій лише 3 не потребують змін у Реєстрі ПЗФ. Для 5 заказників доцільно змінити назву, для 3 — категорію, для 3 — уточнити місцезнаходження та межі, для 13 — змінити за-

гальну характеристику. Територію заказника "Лунг" пропонується збільшити. За рахунок цього загальна площа заказників місцевого значення зросте більш ніж на 700 га. Слід негайно провести роботу по включенняю інших перспективних для заповідання територій до природно-заповідного фонду Одесської області.

Література

1. Леоненко В. Б., Стеценко М. П., Возний Ю. М. Додаток до атласу об'єктів природно-заповідного фонду України. — Київ: Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", 2003. — 142 с.
2. Реєстр територій и об'єктов природно-заповедного фонда Одесської області. — Одесса, 1988. — 39 с.
3. Одеська область // Природно-заповідний фонд Української РСР. — Київ, Урожай, 1986. — С. 107–111.
4. Липа О. Л., Федоренко А. П. Заповідники та пам'ятки природи України. — Київ: Урожай, 1969. — 187 с.
5. Кохно М. А. Каталог дендрофлори України. — Київ: Фітосоціоцентр, 2001. — 72 с.
6. Соколов С. Я. Сем. 9. Fagaceae A. Br. — Буковые // Деревья и кустарники СССР. Т. 2. — М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1951. — С. 390–493.
7. Попова Е. Н., Златова Е. И. Фитосозологическая ценность энтомологического заказника "Жовтневый" (Одесская область) // Материалы научной конференции, посвященной 180-летию со дня рождения заслуженного профессора Харьковского ун-та Л. С. Ценковского. — Харьков. — 2003. — С. 57–59.

В. П. Стойловский¹, Е. Н. Попова²

Одесский национальный университет,
¹ кафедра зоологии,
² кафедра ботаники
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

РЕЗУЛЬТАТЫ ИНВЕНТАРИЗАЦИИ ПРИРОДНО-ЗАПОВЕДНОГО ФОНДА ОДЕССКОЙ ОБЛАСТИ. II. ЗАКАЗНИКИ МЕСТНОГО ЗНАЧЕНИЯ

Резюме

Проведен анализ состояния природно-заповедного фонда (ПЗФ) Одесской области категории "заказники местного значения". На основе экспедиционных полевых исследований выяснено пространственное размещение заповедных объектов и дана оценка состояния флористического и фаунистического разнообразия. Особое внимание удалено видам растений и животных, которые охраняются в рамках национальных и международных природоохранных документов. Предлагается исключить из реестра природно-заповедного фонда Одесской области 4 объекта, а в 23 внести изменения.

Ключевые слова: заказник, среда, флористический и фаунистический состав.

V. P. Stoylovsky¹, E. M. Popova²

Odessa Mechnikov National University,

¹ Department of Zoology,

² Department of Botany

Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

**INVENTORY RESULTS OF NATURE RESERVED FUND OF THE
ODESSA REGION. II. LOCAL LEVEL GAME PRESERVES**

Summary

In the article the analysis of the state of nature-reserved fund of the Odessa area of the category "game preserve of local level" is carried out. On the basis of the forwarding field researches the spatial disposition of the reserved objects is found out and the estimation of the state of floristic and faunistic variety is given. The special attention is given to the species of plants and animals protected within the limits of national and international nature protection documents.

Keywords: game preserve, environment, floristic and faunistic structure.

ГЕНЕТИКА І ЦИТОЛОГІЯ



УДК 591.551:575.224.2:595.773.6

Н. Е. Волкова, асп., Л. И. Воробьёва, канд. биол. наук, доц.

Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна,
кафедра генетики і цитології,
пл. Свободи 4, Харків, 61077, Україна

ВЛИЯНИЕ ГЕННЫХ МУТАЦИЙ ХРОМОСОМ 1 И 2 НА ПОЛОВОЕ ПОВЕДЕНИЕ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

На модели *Drosophila melanogaster* изучали влияние ряда морфологических мутаций на признаки половой активности самцов и половой рецептивности самок как важных компонентов приспособленности. Показано, что наличие мутаций в генотипах особей в большинстве случаев оказывает существенное влияние на половое поведение, однако характер влияния различен для разных мутаций. Выявлена положительная корреляция между половой активностью самцов и половой рецептивностью самок. Проанализировано влияние хромосомной локализации той или иной морфологической мутации и тканевой (органной) принадлежности вызываемого ею дефекта на проявление компонентов полового поведения *Drosophila melanogaster*.

Ключевые слова: *Drosophila melanogaster*, мутации, адаптация, половое поведение.

Репродуктивная функция насекомых представляет собой адаптивный комплекс признаков. Его изучение необходимо для раскрытия процессов, совершающихся на популяционном уровне, и, следовательно, для регуляции структуры и численности популяций. Ранее нами было установлено [1], что половая активность самцов *Drosophila melanogaster* обнаруживает высокую положительную корреляцию с плодовитостью соответствующих линий, а также было показано дифференциальное влияние некоторых морфологических мутаций на компоненты полового поведения *Drosophila melanogaster*. Из литературы известно, что значительный вклад в фенотипическое проявление указанного признака вносят половые хромосомы [2, 3, 4, 5]. Цель настоящего исследования состоит в проведении детального количественного анализа влияния некоторых морфологических мутаций, локализованных в хромосомах 1 и 2 *Drosophila melanogaster*, на показатели половой активности самцов и половой рецептивности самок как компонентов функции воспроизведения.

Следует подчеркнуть, что мало изученными остаются также особенности онтогенетического развития и адаптивные возможности бионтов с искусственно синтезированными генотипами [6], хотя исследования в этом направлении являются актуальными в связи с расширяющимся использованием в генетике, селекции и других смежных областях науки генетически модифицированных организмов и форм с замещёнными хромосомами. Известно, что в экспрессивности целого ряда при-

знаков, имеющих важное приспособительное значение, таких как продолжительность жизни, плодовитость, выживаемость в экстремальных условиях и др. [7] существенную роль играет общий генный баланс [8]. Нарушения последнего могут быть следствием любых вмешательств в структуру генотипа [6]: введения в генотип чужеродных генов, замещения отдельных хромосом, изменения количества хромосом, изогенизация последних и др. С учётом этого в данной работе предварительно были проведены насыщающие скрещивания, в результате которых удалось получить выравненные по генотипу мутантные линии, использованные для дальнейших исследований.

Материалы и методы исследований

В качестве исходного материала для исследований были использованы следующие линии из коллекции кафедры генетики и цитологии ХНУ:

Canton-S (C-S), Oregon (Or) — линии дикого типа, контрастные по половому поведению [1], прошедшие 57 поколений инбридинга к моменту начала эксперимента, и мутантные линии, содержащиеся аутбредно: *y* (1–00) — жёлтое тело, *w* (1–1.5) — белые глаза, *w^a* (1–1.5) — абрикосовые глаза, *B* (1–57.0) — полосковидные глаза, *dp* (2–13.0) — скошенные крылья, *b* (2–48.5) — чёрное тело, *sp* (2–57.5) — киноварные глаза, *vg* (2–67.0) — зачаточные крылья, *bw* (2–104.5) — коричневые глаза.

Для изучения влияния данных мутаций на компоненты полового поведения проводили насыщающие скрещивания по схеме [9] в условиях направленного отбора на маркерную мутацию:

P: ♀M x ♂C-S (Or)

F₁: ♀F₁ x ♂F₁

F₂: 3 N : 1 M

Либо (для мутаций, локализованных в X-хромосоме)

1 N : 1 M

где M — мутантный фенотип, N — нормальный фенотип (дикий тип), F₁ — гибриды первого поколения.

Для каждой исходной мутантной линии было проведено по 6 насыщающих скрещиваний с линией C-S и с линией Or. Таким образом линии были выравнены по генотипу (далее по тексту: *M_{C-S}* — линия, в которой мутация переведена на генетический фон линии дикого типа C-S; *M_{Or}* — линия, в которой мутация переведена на генетический фон линии дикого типа Or).

Исходные линии и линии, выравненные по генотипу, содержали в культуральных сосудах на стандартной сахарно-дрожжевой среде в термостате при температуре 23 °С. Разделение имаго по полу осуществляли в течение первых суток после выхода из пупариума. В эксперимент брали только виргинных особей. Для наркотизации использовали диэтиловый эфир.

Половую активность самцов оценивали по количеству последних, осуществивших спаривание в течение 1 часа [4, 10]. Для этого самок и самцов помещали в химически чистую тестерную камеру ($V=25 \text{ см}^3$) в соотношении $2n \text{ ♀♀} : n \text{ ♂♂}$, где n — количество особей (5 ± 2), и фиксировали процент особей мужского пола, спарившихся в течение 1 часа. Анализ половой рецептивности самок проводили аналогично. Однако в данном случае самок и самцов брали в соотношении $n \text{ ♀♀} : 2n \text{ ♂♂}$ и фиксировали процент женских особей, спарившихся в течение 1 часа. Поведенческое тестирование осуществляли на имаго в возрасте 3 суток без предварительной наркотизации насекомых.

Полученные в ходе эксперимента данные были обработаны статистически [11]. Достоверность разницы оценивали с помощью критерия Стьюдента. Для оценки влияния особенностей генотипа на изучаемые признаки использовали дисперсионный анализ. Силу влияния оценивали по методу М. Снедекора. Для оценки корреляционных связей между исследуемыми признаками применяли коэффициент корреляции рангов К. Спирмена [11]. Для статистической обработки данных использовали программу STATISTICA 6.0.

Результаты исследований и их обсуждение

Как видно из таблицы 1 и рисунка 1, наличие в генотипе мутации с морфологическим проявлением у мух в ряде случаев оказывает существенное влияние на их половое поведение.

При этом направление влияния различных мутаций на половую активность самцов и половую рецептивность самок различно.

Так для мутаций *y* и *dp* характерно достоверное увеличение показателя половенной активности самцов при переведении их на генетический фон линии C-S и тенденция к его снижению при переведении данных мутаций на генетический фон линии *Or*. Противоположное влияние, с различным уровнем достоверности, выявлено для мутаций *w*, *B*, *b* и *sp*. Что касается рецессивных мутаций *w^a* и *vg*, то их наличие в генотипе особи в гомозиготном состоянии сопровождается снижением показателя половенной активности самцов на генетическом фоне обеих использованных в эксперименте линий дикого типа.

Особый случай представляет мутация *bw*. Половая активность обеих полученных линий (*bw_{C-S}* и *bw_{Or}*) достоверно превышает таковую всех родительских линий. Таким образом, мутации *w^a*, *vg* и *bw* оказывают одностороннее действие на изучаемый признак, в то время как эффект влияния остальных изученных мутаций имеет разнонаправленный характер в условиях различного генетического фона линий.

Результаты оценки половой рецептивности самок показали, что только мутация *bw* способствует достоверному повышению этого физиологического показателя при переводе указанной маркерной мутации как на генетический фон линии C-S, так и на фон линии *Or*. Для мутаций *w*, *w^a* и *vg* справедливо обратное, т. е. снижение половенной рецептивности самок при тех же условиях. Что касается мутаций *y*, *B*, *b* и *sp*, то их наличие на генетическом фоне линии C-S сопровожда-

ется снижением половой рецептивности самок и её повышением на генетическом фоне линии *Or*. Значения этого же показателя для особей линии, несущей мутацию *dp* на генетическом фоне как линии *C-S*, так и линии *Or*, практически совпадают с таковыми исходной линии дикого типа.

Таблица 1

Показатели полового поведения мутантных линий, выравненных по генотипу, и исходных линий дикого типа

№ п/п	Линия	ПА самцов			ПР самок		
		Среднее±ошибка	t(ГФ)	p (ГФ)	Среднее±ошибка	t(ГФ)	p (ГФ)
1	<i>C-S</i>	55,68 ± 7,31			79,04 ± 3,58		
2	<i>Or</i>	23,75 ± 4,07			47,19 ± 5,83		
3	<i>y_{C-S}</i>	81,83 ± 3,91	3,15	<0,01	75,33 ± 3,13	0,78	> 0,05
4	<i>y_{Or}</i>	15,83 ± 3,21	0,75	> 0,05	77,50 ± 2,42	4,80	<0,001
5	<i>w_{C-S}</i>	24,56 ± 4,02	3,73	<0,001	33,33 ± 5,05	7,38	<0,001
6	<i>w_{Or}</i>	56,57 ± 0,77	8,91	<0,001	41,67 ± 5,79	0,67	> 0,05
7	<i>w^a_{C-S}</i>	45,99 ± 6,34	1,00	> 0,05	59,52 ± 3,70	3,79	<0,001
8	<i>w^a_{Or}</i>	8,10 ± 1,11	2,75	<0,01	37,00 ± 4,76	1,35	> 0,05
9	<i>B_{C-S}</i>	27,74 ± 2,07	3,68	<0,001	28,25 ± 5,40	7,84	<0,001
10	<i>B_{Or}</i>	33,33 ± 7,83	1,55	> 0,05	56,67 ± 6,59	1,08	> 0,05
11	<i>dp_{C-S}</i>	76,39 ± 3,98	2,5	<0,05	78,76 ± 3,62	0,05	> 0,05
12	<i>dp_{Or}</i>	21,67 ± 0,44	0,48	> 0,05	37,90 ± 0,72	1,58	> 0,05
13	<i>b_{C-S}</i>	54,14 ± 7,44	0,15	> 0,05	38,33 ± 7,04	5,15	<0,001
14	<i>b_{Or}</i>	83,34 ± 3,09	12	<0,001	68,89 ± 1,80	3,55	<0,001
15	<i>cn_{C-S}</i>	53,33 ± 7,81	0,22	> 0,05	64,11 ± 6,61	1,98	<0,05
16	<i>cn_{Or}</i>	86,67 ± 3,50	12	<0,001	70,22 ± 4,37	3,16	<0,001
17	<i>vg_{C-S}</i>	23,00 ± 3,79	4	<0,001	23,33 ± 4,60	9,56	<0,001
18	<i>vg_{Or}</i>	17,83 ± 2,03	2,1	<0,05	17,11 ± 2,08	4,86	<0,001
19	<i>bw_{C-S}</i>	99,53 ± 0,26	5	<0,001	88,09 ± 2,18	2,16	<0,05
20	<i>bw_{Or}</i>	93,20 ± 1,57	17	<0,001	76,00 ± 2,23	4,61	<0,001

Примечание: ПА — половая активность; ПР — половая рецептивность; ГФ — генетический фон; t — критерий Стьюдента; p — уровень значимости.

Расчет дисперсий по показателям половенной активности самцов и половенной рецептивности самок показывает, что вариабельность проявления первого признака в ответ на введение мутации превышает таковую второго ($\sigma^2_{\text{ПА}}=1385,494$; $\sigma^2_{\text{ПР}}=1019,896$).

Из рисунка 1 видно, что 7 из 9 изученных в данной работе мутаций односторонне влияют на половую активность самцов и половую рецептивность самок на различном генетическом фоне, а характер влияния мутаций *w^a*, *vg* и *bw* вообще не зависит от генетического фона линии.

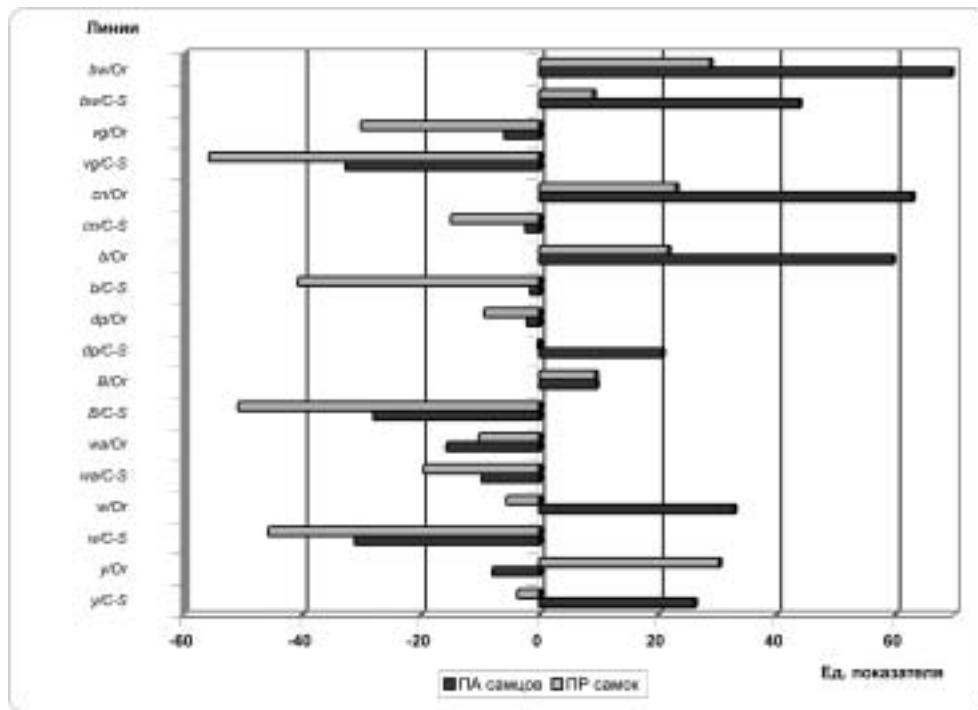


Рис. 1. Влияние мутаций на половое поведение *Drosophila melanogaster* (за 0 принято значение соответствующего показателя мух дикого типа C-S и Or)

Корреляционный анализ подтвердил наличие достоверной ($p < 0,05$) положительной связи между признаками половой активности самцов и половой рецептивности самок ($r_s = 0,65$).

Результаты двухфакторного дисперсионного анализа свидетельствуют о достоверном влиянии изученных мутаций на проявление как признака половой активности самцов, так и половой рецептивности самок ($p < 0,001$), а также о совместном влиянии мутации и генетического фона ($p < 0,001$) на оба указанных признака. Кроме того, для признака половой активности самцов отмечено достоверно значимое влияние генетического фона линии ($p < 0,001$). Сила влияния отдельных генетических факторов на компоненты полового поведения *Drosophila melanogaster* приведена в таблице 2.

При оценке влияния хромосомной локализации мутаций (т. е. локализации в хромосоме 1 или 2) при помощи однофакторного дисперсионного анализа не было выявлено достоверно значимого влияния фактора на половую рецептивность самок. В то же время 10,4% от общего варьирования признака половой активности самцов обусловлено именно хромосомной локализацией мутации ($p < 0,001$).

Кроме того, все исследуемые мутации были разделены на 3 группы по признаку органной принадлежности морфологического эффекта: мутации, затрагивающие глаза; мутации, влияющие на пигментацию кутикулярных покровов; мутации, изменяющие морфологию крыла.

При помощи однофакторного дисперсионного анализа было выявлено достоверно значимое влияние указанной органной принадлежности морфологического эффекта мутации на проявление полового поведения *Drosophila melanogaster*. Сила этого влияния на половую активность самцов составляет 0,081 ($p<0,05$), а на половую рецептивность самок — 0,11 ($p<0,05$).

Таблица 2
Сила влияния отдельных генетических факторов на компоненты полового поведения *Drosophila melanogaster*

Фактор \ Показатель	Мутация		Генетический фон		Мутация + генет. фон		Σ
	($h^2_{\text{мут}}$)	p	($h^2_{\text{гф}}$)	p	($h^2_{\text{мут+гф}}$)	p	
Половая активность	0,445	<0,001	0,021	<0,01	0,522	<0,001	0,988
Половая рецептивность	0,232	<0,001	-- [†]	--	0,227	<0,05	0,459

† Статистически значимого влияния генетического фона на признак половой рецептивности самок не выявлено

Данные, полученные в ходе исследования, подтверждают наличие плейотропного эффекта всех использованных в эксперименте морфологических мутаций на компоненты полового поведения *Drosophila melanogaster*. Несмотря на то, что в литературе неоднократно встречаются упоминания о возможном плейотропном действии различных мутаций на половое поведение *Drosophila melanogaster* [3, 12], исследования, в которых был проведен тщательный количественный анализ, немногочисленны.

Причины влияния различных морфологических мутаций на компоненты полового поведения, вероятно, определяются не столько наличием морфологических изменений как таковых, сколько сопровождающими их биохимическими изменениями. Так, например, для мутаций *у* и *b*, влияющих на пигментацию кутикулы, отмечена связь с биосинтезом биогенных аминов, в частности катехоламинов [14, 15]. Кроме того, продукт экспрессии гена *у* в больших количествах обнаруживается в нейробластах личинок 3-го возраста, которые характеризуются также экспрессией гена *fruitless* (*fru*). Известно, что ряд мутаций генов *у* и *fru* приводят к снижению уровня вибрации крыла, специфического для самцов компонента ритуала ухаживания. Белки же *Fruitless* и *Yellow* были обнаружены в основной части мозга, которая обеспечивает характерное для самца половое поведение. Существует предположение, что *у* является одним из регуляторных факторов *fru*-ветви иерархии определения пола, хотя конкретная роль его пока не известна [16].

Мутации *w*, *w^a* и *sp*, как известно [17, 18], нарушают обмен триптофана, который является предшественником ксантомматина, коричневого глазного пигмента *Drosophila melanogaster* [19]. Плейотропный

эффект мутаций, нарушающих обмен триптофана, был изучен на медоносной пчеле и на дрозофиле [17]. Для насекомых обоих видов была выявлена следующая закономерность: чем ранее стадия, на которой прерывается метаболизм триптофана, тем сильнее угнетающее действие мутации и тем шире её плейотропный эффект. Эта закономерность может быть отчетливо прослежена для признака половой активности самцов, который, как ранее было показано [1], является важным компонентом приспособленности. Так самцы *vermillion* (*v*) (эта мутация ингибирует фермент триптофаниллазу, прерывая тем самым метаболизм триптофана на самой первой стадии [17]) спариваются менее успешно, чем самцы *sp* [12] (мутация прерывает метаболизм триптофана на этапе гидроксилирования кинуренина [17, 19]). Сила же влияния мутации *sp* ($h^2_{cn} = 0,011$; $p < 0,05$) на показатель половой активности самцов несколько превышает таковую мутации *w* (продукт этого гена является компонентом АВС-переносчика предшественника ксантоматина из цитоплазмы пигментной клетки в пигментные гранулы [18]), влияние которой статистически не достоверно. Что касается мутации *cardinal* (*cd*), которая нарушает последнюю стадию биосинтеза ксантоматина из триптофана, её плейотропный эффект существенно меньше по сравнению с мутантами *v* [17]. По-видимому, эта закономерность в меньшей степени справедлива для признака половой рецептивности самок. Кроме того, как свидетельствуют результаты нашего исследования, суммарная сила влияния генетических факторов на данный признак самок значительно слабее, чем на признак половой активности самцов. Обращает также на себя внимание более выраженная по сравнению с мутациями *w* и *sp* сила влияния мутации *w^a* на половую активность самцов ($h^2_{wa} = 0,072$; $p < 0,05$). Этот факт требует более детального исследования. Предполагают [20], что влияние данной мутации тканеспецифично, так как у мутантных особей накопление 3-гидроксикинуренина на личиночной стадии находится в пределах нормы, но существенно снижается на стадии имаго.

Полученные данные об отрицательном влиянии мутаций *w^a* и *vg* на половое поведение *Drosophila melanogaster*, а также данные других авторов о существенном повышении теплоустойчивости и продолжительности жизни имаго при насыщении генотипа *vg* генами линии C-S [6] и о преимущественном увеличении продолжительности жизни имаго при переведении на генетический фон линий дикого типа C-S и *Or* мутации *wa* [21] могут служить основанием для предположения о существовании отрицательной связи между половой активностью особи и продолжительностью её жизни. Однако сведения по этому вопросу, представленные в литературе, неоднозначны. Есть данные, согласно которым самцы с высокой половой активностью имеют слабую иммунную систему и более подвержены бактериальным инфекциям [22], что, вероятно, способствует снижению продолжительности жизни имаго. В то же время контрастные по половому поведению линии ВА и НА обладают соответственно высокой и низкой продолжительностью жизни [23].

Мутация *V* отрицательно влияет на компоненты полового поведения *Drosophila melanogaster* при переводе на генетический фон линии

С-S и положительно — при переводе на генетический фон линии Or. Аналогичный эффект был отмечен другими авторами в отношении экспрессивности самого признака Bar, т. е. количества фасеток глаза [24]. Известно, что данная мутация плейотропно влияет на структуру мозга дрозофилы [13]. Соответственно редукции количества фасеток уменьшается число центробежных нервных волокон, отходящих от ретинальных клеток. Более того, у мутантов *Bar* отсутствуют и соответствующие участки зрительной нервной системы на более глубоком уровне. Таким образом, можно предположить, что колебания количества фасеток отражаются на остроте зрения насекомого, а так как зрительный канал является одним из каналов для получения сенсорной информации в процессе ритуала ухаживания у дрозофилы [25], то, следовательно, — и на компонентах полового поведения.

В пользу положительного влияния мутации *bw* на половое поведение *Drosophila melanogaster* говорит тот факт, что эта рецессивная мутация, одна из немногих, была обнаружена в природной популяции данного вида [26]. Этот факт может служить доказательством, установленной нами ранее [1] положительной связи между половой активностью самцов и компонентами приспособленности *Drosophila melanogaster*.

Что касается мутаций, влияющих на морфологию крыльев, то, по-видимому, увеличение степени редукции крыловой пластиинки отрицательно влияет на проявление компонентов полового поведения *Drosophila melanogaster*. Более того, влияние мутации *vg* на половую активность самцов ($h^2_{vg}=0,125$; $p<0,01$) и на половую рецептивность самок ($h^2_{vg}=0,53$; $p<0,01$) превышает аналогичные влияния мутации *dp* (в последнем случае для показателя половой активности самцов $h^2_{dp}=0,023$; $p<0,05$; статистически достоверного влияния данной мутации на показатель половой рецептивности самок выявлено не было). Обращая внимание на то, что стадия вибрации является определяющей в ритуале ухаживания *Drosophila* [12], правильное её выполнение, по-видимому, отчасти обеспечивается нормальным развитием крыловой пластиинки. Кроме того, интересным представляется тот факт, что данные, полученные для линий, несущих мутацию *y*, достоверно не отличаются от данных для соответствующих линий, мутантных по гену *dp*.

Таким образом, в реализации компонентов полового поведения, как и других компонентов приспособленности, генотип принимает участие как целостная сложная многоуровневая система.

Выводы

1. Ряд мутаций, имеющих морфологическое проявление, существенно влияют на показатели половой активности самцов и половой рецептивности самок *Drosophila melanogaster*.
2. Характер указанного влияния различен для разных мутаций.
3. Существует положительная корреляция между показателями половой активности самцов и половой рецептивности самок *Drosophila melanogaster*.

4. Половое поведение самцов и самок *D. melanogaster* существенно зависит от хромосомной принадлежности изучаемых морфологических мутаций.

Литература

1. Волкова Н. Е., Воробьёва Л. И. Особенности наследования и значение для приспособленности компонентов полового поведения *Drosophila melanogaster* // Генетика. — 2005. — Т. 41, № 2. — С. 1–6.
2. Hall J. C. The Mating of a Fly // Science. — 1994. — Vol. 264. — P. 1702–1714.
3. Полз И. Р. Анализ генетической детерминации половой активности самцов *Drosophila melanogaster*. Автореф. канд. дис. ЛГУ, 1979.
4. Chippindale A. K., Rice W. R. Y Chromosome Polymorphism Is a Strong Determinant of Male Fitness in *Drosophila melanogaster* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2001. — V. 98, № 10. — P. 5677–5682.
5. Huttunen S., Aspi J. Complex Inheritance of Male Courtship Song Characters in *Drosophila virilis* // Behavior Genetics. — 2003. — Vol. 33, № 1. — P. 17–24.
6. Левчук Л. В., Тоцкий В. М. Заміщення хромосом і пристосованість генотипів *Drosophila melanogaster* // Цитологія і генетика. — 1998. — Т. 32, № 2. — С. 42–48.
7. Tanaka T., Yamazaki T. Fitness and Its Components in *Drosophila melanogaster* // Jap. J. Genet. — 1990. — V. 65, № 6. — P. 417–426.
8. Тоцкий В. М., Хаустова Н. Д. Ген-ензимна система алкогольдегідрогенази і адаптивна здатність *Drosophila melanogaster* // Укр. біохім. журн., 1996. — Т. 68, № 3. — С. 62–67.
9. Никоро З. С., Васильєва Л. А. Проблема изменчивости и отбора по количественным признакам на примере популяции *Drosophila* / В кн.: Дрозофіла в експериментальній генетиці. — Новосибирск, "Наука", 1978. — С. 196–243.
10. Субочева Е. А., Романова Н. И., Карпова Н. Н. и др. Репродуктивное поведение самцов в линиях *Drosophila melanogaster*, отличающихся по аллелям гена *flamenco* // Генетика. 2003. — Т. 39, № 5. — С. 675–681.
11. Лакин Г. Ф. Биометрия. Москва: "Высшая школа", 1990. — 351 с.
12. Эрман Л., Парсонс П. Генетика поведения и эволюция. М.: Мир, 1984. — 566 с.
13. Hirsh J. Behavior-Genetic Analysis. — New York, Mc Graw — Hill, Inc., 1967. — 522 р.
14. Walter, M. F., Black, B. C., Afshar, G. et al. Temporal and Spatial Expression of the *yellow* Gene in Correlation With Cuticle Formation and Dopa Decarboxylase Activity in *Drosophila* Development. // Dev. Biol. — 1991. — V. 147, № 1 — P. 32–45.
15. Baier A., Wittek B., Brembs B. *Drosophila* as a New Model Organism for The Neurobiology of Aggression? // The Journal of Experimental Biology. — 2002. — № 205. — P. 1233–1240.
16. Drapeau, M. D., Radovic, A., Wittkopp, P. J., Long, A. D. A Gene Necessary For Normal Male Courtship,*yellow*,Acts Downstream Of Fruitless In The *Drosophila melanogaster* Larval Brain. // A. Dros. Res. Conf. 44. — 2003: 845B.
17. Пономаренко В. В. и др. О реализации генетической информации, детерминирующей деятельность нервной системы и поведение животных различных филогенетических уровней. / В кн. Актуальные проблемы генетики поведения. Л.: Наука, 1975. — С. 195–217.
18. Mackenzie S. M., Howells A. J., Cox G. B., Ewart G. D. Sub-cellular Localization of the white/scarlet ABC Transporter to Pigment Granule Membranes Within The Compound Eye of *Drosophila melanogaster*. // Genetica. — 2000. — V. 108, № 3. — P. 239–52.
19. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов. Москва: "Мир", 1986. — 422 с.
20. Howells A. J., Summers K. M., Ryall R. L. Developmental Patterns of 3-hydroxykynurenine Accumulation in *white* and Various Other Eye Color Mutants of *Drosophila melanogaster* // Biochem Genet. — 1977. — V. 15, № 11–12. — P. 1049–59.
21. Золотих I., Некрасова А., Шахbazов В. Роль системи генотипу та окремих видимих мутацій у визначені тривалості життя *Drosophila melanogaster* // Вісник Львів. Ун-ту. Серія біологічна. — 2004. — Вип. 35. — С. 115–120.

22. McKean K A., Nunney L. Increased Sexual Activity Reduces Male Immune Function in *Drosophila melanogaster* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2001. — V. 98, № 14. — P. 7904–7909.
23. Кайданов Л. З. и др. Генетические эффекты дестабилизирующего отбора при селекции по адаптивно важным признакам в линиях *Drosophila melanogaster* // Генетика. — 1997. — Т. 33, № 8. — С. 1102–1109.
24. Золотих I., Некрасова A. Роль генотипу та старіння у зміні експресивності ознаки Bar *Drosophila melanogaster* // Вісник Львів. Ун-ту. Серія біологічна. — 2004. — Вип. 38. — С. 88–91.
25. Yamamoto D., Nakano Y. Sexual Behavior Mutants Revisited: Molecular And Cellular Basis of *Drosophila* Mating // Cell. Mol. Life Sci. — 1999. — V. 56. — P. 634–646.
26. Lindsley D. L., Grell E. H. Genetic Variations of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Just. Wash. Publ. 1968. — 627 p.

Н. Е. Волкова, Л. И. Воробьёва

Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна,
кафедра генетики і цитології,
пл. Свободи 4, Харків, 61077, Україна

**ВПЛИВ ГЕННИХ МУТАЦІЙ ХРОМОСОМ 1 ТА 2 НА СТАТЕВУ
ПОВЕДІНКУ *DROSOPHILA MELANOGASTER***

Резюме

На моделі *Drosophila melanogaster* вивчали вплив певних морфологічних мутацій на ознаки статевої активності самців та статевої рецептивності самиць як важливих компонентів пристосованості. Результати дослідження свідчать, що наявність мутації у генотипі особини у більшості випадків істотно впливає на її статеву поведінку. Однак характер впливу є різним для різних мутацій. Встановлено позитивну кореляцію між статевою активністю самців та статевою рецептивністю самиць. Проаналізовано вплив хромосомної локалізації мутації та органної належності морфологічного дефекту на прояв статевої поведінки *Drosophila melanogaster*.

Ключові слова: *Drosophila melanogaster*, мутації, адаптація, статева поведінка.

N. E. Volkova, L. I. Vorobjova

V. N. Karazin National University of Kharkiv,
Department of Genetics and Cytology,
Svobody Sq. 4, Kharkiv, 61077 Ukraine

**THE INFLUENCE OF GENE MUTATIONS IN CHROMOSOMES 1
AND 2 ON *DROSOPHILA MELANOGASTER* MATING BEHAVIOR**

Summary

The model of *Drosophila melanogaster* mating behavior was used to study the influence of morphological mutations on males mating activity and females mating receptivity as the important components of fitness. The presence of mutation in genotype demonstrates its great influence upon the components of mating behavior. But the character of influence differs from mutation to mutation. Positive correlation between males mating activity and females mating receptivity was found out. The influence of chromosomal localization and localization of morphological effect on the components of mating behavior has been also analyzed.

Keywords: *Drosophila melanogaster*, mutation, adaptation, mating behavior.

УДК 577.2:631:581.115:542

А. Ю. Губський¹, асп., О. В. Жук², док. биол. наук, проф.¹ Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра физиологии человека и животных,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина² Опольский университет,
кафедра молекулярной и экспериментальной биологии,
ул. Олеска, 48, Ополе, 45052, Польша

ПОЛИМОРФИЗМ СТРУКТУРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ СИГНАЛЬНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ РЕКОМБИНАЦИИ ГЕНОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ И Т-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ЧЕЛОВЕКА

Установлена структура 547 сигнальных последовательностей рекомбинации трех генов иммуноглобулинов и четырех генов Т-клеточных рецепторов человека. Нуклеотидный состав 50 % гептамеров и 89 % наномеров не соответствует каноническим последовательностям CACAGTG и ACAAAAAACC. Только 84 % RSS содержат 12- или 23- нуклеотидные спайсеры. Структура последовательностей рекомбинации иммуноглобулинов менее полиморфна, чем Т-клеточных рецепторов.

Ключевые слова: гептамеры, наномеры, RSS.

В генах иммуноглобулинов (IG) и Т-клеточных рецепторов (TCR) сигнальные последовательности рекомбинации (RSS) располагаются на границах инtronов, примыкающих к V-, D-, J- сегментам. Они являются субстратом белков RAG1 и RAG2 в реакции эндонуклеазного расщепления ДНК. В результате этого образуются функциональные IG и TCR гены [1]. RSS состоят из трех типов элементов: гептамеров, спайсеров и наномеров. Структура гептамеров, в целом, соответствует последовательности CACAGTG, а наномеров ACAAAAACC. Первые три позиции гептамера (CAC), пятая, шестая и седьмая позиции наномера (AAA) являются наиболее консервативными [2, 3]. Размер спайсерного участка, как правило, постоянен и соответствует 12- или 23- нуклеотидам (12RSS и 23RSS). Однако, у некоторых RSS он может изменяться на один нуклеотид, образуя 11-, 13-, 22- и 24- нуклеотидные производные (11RSS, 13RSS, 22RSS, 24RSS). Спайсер отделяет гептамер от наномера и проявляет слабую консервативность нуклеотидного состава [4]. В настоящее время, как у человека, так и мыши, в IG и TCR генах установлена структура многих RSS. Информацию о них можно найти в литературе и электронных биологических базах данных Entrez, IMGT и т. д.

Нами была поставлена задача: провести полный сравнительный анализ нуклеотидного состава гептамеров и наномеров всех сигналь-

ных последовательностей рекомбинации IG, TCR генов человека, дать количественную оценку степени полиморфизма их структур.

Материалы и методы

В работе исследована первичная структура ДНК генов тяжелой, κ-, λ- цепей иммуноглобулинов (IGH, IGK, IGL) и α-, δ-, γ-, β- цепей Т-клеточных рецепторов (TCRA, TCRD, TCRG, TCRB) человека. Последовательность ДНК указанных генов с координатами их V-, D-, J- сегментов взята из электронной биологической базы данных Entrez в виде 7 файлов текстового формата (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez/>). В указанном источнике последовательности RSS представлены для V-сегментов генов TCRA и TCRD, а так же для V-, D-, J- сегментов гена TCRB.

Альтернативный поиск сигнальных последовательностей рекомбинации провели в 583 инtronных участках, размером 50 нуклеотидов, примыкающих к 551 V-, D-, J- сегментам. Если в анализируемой области гена, на расстоянии друг от друга равном 12 или 23 парам оснований, обнаруживались семи- и девятинуклеотидные последовательности, которые соответствовали структурам CACAGTG и ACAAAAAACC как минимум по трем или четырем основаниям, то найденные элементы мы рассматривали как гептамеры и наномеры RSS, разделенные 12- или 23- нуклеотидными спейсерами. Делая правку на изменчивость длины спейсерной области, мы обнаруживали наномеры, в большей степени соответствующие структуре ACAAAAAACC, чем при стандартных размерах спейсеров. Кроме 12RSS и 23RSS, это позволило идентифицировать 11RSS, 13RSS, 22RSS, 24RSS и другие. В ходе исследования не рассматривались RSS, состоящие только из одного гептамера или наномера.

Консервативность нуклеотидных позиций исследуемых элементов, определяли на основании процента встречаемости одного из четырех оснований в определенном участке последовательности от общего количества анализируемых элементов.

Результаты исследования

Проанализировав у генов TCRA и TCRB последовательности известных RSS, мы обнаружили, что в структуре некоторых из них неверно указан нуклеотидный состав гептамеров и наномеров. Так, у сегментов TRAV26-1, TRAV26-2, TRBV11-1, TRBV13 генов TCRA и TCRB вместо наномеров GCAATATCT, GCAATATCT, ACAAAACTC, ACCCAAACC указаны последовательности CAATATCTC, CAATATCTC, CACAAAATC, TACCCAAAC соответственно. Как мы определили, это было связано с неверно установленным размером спейсерной области. Например, правильно считать, что длина спейсера RSS сегмента TRBV11-1 равняется 24 основаниям, а не 23, поскольку следующий за ним девятинуклеотидный фрагмент ДНК в большей степени соответствует последовательности ACAAAAAACC, так как отличается от нее всего по двум основаниям. В случае 23- нуклеотидного спейсера отличие составило

бы четыре основания, ставя под сомнение точность нуклеотидного состава определяемого элемента. В структуре RSS, описанных в литературе, мы обнаружили ошибки такого же характера [5]. У сегмента IGHV3-54 гена IGH спейсер RSS представлен 25, а не 22 нуклеотидами, ибо именно последовательности CACCAGG и ACACAGAAT больше подходят на роль гептамера и наномера.

Учитывая эти факты, мы отказались от использования электронных баз данных при исследовании структурного полиморфизма сигнальных последовательностей рекомбинации. Проанализировав имеющиеся данные о первичной структуре ДНК трех IG и четырех TCR генов человека, мы самостоятельно установили последовательности гептамеров, спейсеров и наномеров RSS (см. материалы и методы).

У 515 V-, D-, J- сегментов мы обнаружили 547 RSS, содержащих как гептамеры, так и наномеры. У 36 сегментов мотивы рекомбинации отсутствовали или состояли из одного элемента. Мы установили, что половина всех гептамеров и большая часть наномеров (50 % и 89 %) не соответствуют каноническим структурам CACAGTG и ACAAAAAACC (табл. 1).

Таблица 1
Количественная оценка структурного полиморфизма гептамеров и наномеров сигнальных последовательностей рекомбинации IG и TCR генов человека

Элементы RSS	Общ. Кол-во	Моно-морфные	Поли-морфные	Количество нуклеотидных замен в полиморфных гептамерах и наномерах				
				1	2	3	4	5
Гептамеры (IG, TCR)	547	273 (50 %)	274 (50 %)	148 (54 %)	90 (33 %)	30 (11 %)	6 (2 %)	0
Наномеры (IG, TCR)	547	60 (11 %)	487 (89 %)	192 (39 %)	155 (32 %)	96 (20 %)	37 (8 %)	7 (1 %)
Гептамеры (IG)	325	192 (59 %)	133 (41 %)	83 (63 %)	33 (25 %)	17 (12 %)	0	0
Гептамеры (TCR)	222	81 (36 %)	141 (64 %)	65 (46 %)	57 (41 %)	13 (9 %)	6 (4 %)	0
Наномеры (IG)	325	43 (13 %)	282 (87 %)	150 (53 %)	66 (23 %)	48 (17 %)	14 (5 %)	4 (2 %)
Наномеры (TCR)	222	17 (8 %)	205 (92 %)	42 (20 %)	89 (43 %)	48 (24 %)	23 (11 %)	3 (2 %)

Значительная часть полиморфных последовательностей отличается от них на одно основание (54 % гептамеров и 39 % наномеров), реже на большее их количество. Нужно отметить, что полиморфизм структурных элементов RSS иммуноглобулинов выражен слабее, чем у Т-клеточных рецепторов. Из всех трех генов наибольшее количество канонических гептамеров и наномеров обнаружено в гене к-легкой цепи иммуноглобулина (рис. 1). В целом, нуклеотидный состав наномеров менее консервативен, чем гептамеров. Мы выявили, 86 поли-

Структурный анализ сигнальных последовательностей рекомбинации

морфных типов гептамеров и 165 типов наномеров. Из них в структуре RSS наиболее часто обнаруживались последовательности CACTGTG и ACACAAACC (32 и 64 раза).

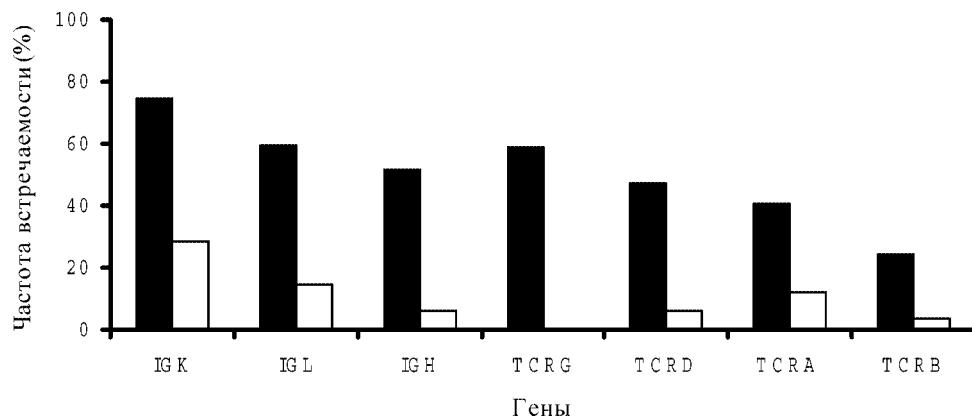


Рис. 1. Частота встречаемости канонических гептамеров (CACAGTG) и наномеров (ACAAAAACC) в генах иммуноглобулинов и Т-клеточных рецепторов человека. Гептамеры отмечены черным, а наномеры — белым

Мы установили, что в основном замены в гептамерах происходят по последним четырем позициям консенсуса (AGTG) - соответственно с 84 %, 87 %, 79 % и 82 % частотой. Кроме описанного в литературе тринуклеотида AAA, высокую степень консервативности проявляет также второй цитозин наномера. Его замена на другое основание происходит с 9 % частотой. Нужно отметить, что консервативность нуклеотидного состава как гептамеров, так и наномеров иммуноглобулинов выше, чем у Т-клеточных рецепторов (табл. 2).

Таблица 2
Консервативность нуклеотидных позиций гептамеров и наномеров сигнальных последовательностей рекомбинации IG и TCR генов человека (в процентах)

Гептамеры генов	Нуклеотидные позиции консенсуса							Наномеры генов	Нуклеотидные позиции консенсуса									
	C	A	C	A	G	T	G		A	C	A	A	A	A	A	A	C	C
IG, TCR	97	96	95	84	87	79	82	IG, TCR	74	91	82	44	90	96	90	82	73	
IG	96	94	93	85	91	90	91	IG	77	92	86	41	90	95	91	90	83	
TCR	99	99	97	84	81	63	68	TCR	69	89	75	47	90	97	90	72	59	

Примечание: подчеркнута частота встречаемости нуклеотидов в наиболее консервативных позициях гептамеров и наномеров

Проанализировав размер 547 спейсерных участков RSS, мы обнаружили, что только 461 из них (84 %) состоят из 12 или 23 нуклеотидов. Кроме этих общеизвестных и их производных, встречаются спейсеры размером 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21 и 25 нуклеотидов (табл. 3).

Таблица 3
Количество разных типов спейсеров, обнаруженных в структуре сигнальных последовательностей рекомбинации IG и TCR генов человека

Гены	Типы длин спейсеров (в нуклеотидах)														Общее количество спейсеров
	11	12	13	14	15	16	17	19	20	21	22	23	24	25	
IG, TCR	6	210	3	1	2	1	2	3	4	6	40	251	12	6	547
IG	4	130	2	0	2	1	2	3	2	5	19	140	10	5	325
TCR	2	80	1	1	0	0	0	0	2	1	21	111	2	1	222

Основной вывод работы состоит в том, что сигнальные последовательности рекомбинации — это полиморфные структуры, в которых нуклеотидный состав гептамеров и наномеров может значительно отличаться от общеизвестных канонических последовательностей.

Литература

1. David G. Schatz. V(D)J recombination // Immunological Reviews. — 2004. — V. 200. — P. 5–11.
2. Bassing C. H., Swat W. and Alt F. W. The mechanism and regulation of chromosomal V(D)J recombination // Cell. — 2002. — V. 109. — P. 45–55.
3. Yoshiko Akamatsu, Naoyo Tsurushita, Fumikiyo Nagawa, Masao Matsuoka, Kenji Okazaki, Mutsuo Imai, and Hitoshi Sakano. Essential residues in V(D)J recombination signals // The Journal of Immunology. — 1994. — V. 153. — P. 4520–4529.
4. Dale A. Ramsden, Kristin Baetz and Gillian E. Wu. Conservation of sequence in recombination signal sequence spacers // Nucleic Acids Research. — 1994. — V. 22. — P. 1785–1796.
5. Matsuda F., Ishi K., Bourvagnet P., Kumma I., Hayashida H., Miyata T. and Honjo T. The complete nucleotide sequence of the human immunoglobulin heavy chain variable region locus // J. Exp. Med. — 1998. — V. 188. — P. 2151–2162.

А. Ю. Губський¹, О. В. Жук²

¹ Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра фізіології людини і тварин,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

² Опольський університет, кафедра молекулярної та експериментальної біології,
вул. Олеска, 48, Ополе, 45052, Польща

ПОЛІМОРФІЗМ СТРУКТУРНИХ ЕЛЕМЕНТІВ СИГНАЛЬНИХ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ РЕКОМБІНАЦІЇ ГЕНІВ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ І Т-КЛІТИННИХ РЕЦЕПТОРІВ ЛЮДИНИ

Резюме

Встановлена структура 547 сигнальних послідовностей рекомбінації трьох генів імуноглобулінів і чотирьох генів Т-клітинних рецепторів людини. Нуклеотидний склад 50 % гептамерів і 89 % наномерів не відповідає канонічним послідовностям CACAGTG і ACAAAAACC. Тільки 84 % RSS містять 12- або 23- нуклеотидні спейсери. Структура послідовностей рекомбінації імуноглобулінів менш поліморфна, чим Т-клітинних рецепторів.

Ключові слова: гептамери, наномери, RSS.

A.Yu. Gubsky¹, O. V. Zhuk²

¹ Odessa National University, Department of Human and Animals Physiology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

² University of Opole, Department of Molecular and Experimental Biology,
Oleska 48, Opole, 45052, Poland

STRUCTURAL POLYMORPHISM RECOMBINATION SIGNAL SEQUENCES OF HUMAN IMMUNOGLOBULIN AND T-CELL RECEPTOR GENES

Summary

The structure of 547 recombination signal sequences of three human immunoglobulin genes and four human T-cell receptor genes have been determined. Nucleotide content of 50 % heptamers and 89 % of nanomers does not correspond to CACAGTG and ACAAAAACC canonical sequences. Only 84 % of RSS contains 12- or 23- nucleotide spacers. The RSS structure of immunoglobulin genes is more conservative than T-cell receptors.

Keywords: heptamer, nanomer, RSS.

УДК 575.116:633.1

В. А. Топтіков¹, канд. біол. наук, ст. наук. співроб., Л. Ф. Дьяченко¹,
канд. біол. наук, пров. наук. сп., В. М. Тоцький¹, д-р біол. наук, проф.,
зав. каф., Л. Т. Бабаянц², канд. біол. наук, гол. наук. сп.

¹ Одесський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра генетики та молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

² Селекційно-генетичний інститут УААН,
відділ фітопатології та ентомології,
Овідіопольська дорога, 3, Одеса, 65036, Україна

ЕКСПРЕСИВНІСТЬ ГЕН-ЕНЗИМНИХ СИСТЕМ У СПОРІДНЕНИХ ЛІНІЙ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ, СТИКІХ ДО МІКОПАТОГЕНІВ

Проведено електрофоретичний розподіл ізоформ пероксидази, фенолоксідази, естераз, супероксиддисмутази та ксантинооксидази близькоспоріднених ліній озимої м'якої пшениці, які містять інтргресовані від *Aegilops cylindrica* гени стійкості до мікопатогенів. Досліджувані лінії відрізняються між собою та від батьків електрофоретичними спектрами ферментів. Експресія структурних генів досліджуваних ферментів у лінії гібридного походження не є результатом простої, адитивної взаємодії відповідних генів батьків. Можливі різні варіанти цієї взаємодії: незмінність прояву у порівнянні з вихідними формами, підсилення або зменшення рівня експресії та виникнення в спектрах ферментів інших, нових комбінацій ізоформ. Вираженість переважної більшості досліджуваних показників електрофоретичних фракцій ферментів корелює з встановленою та теоретично передбачуваною у них кількістю *Bt*-генів.

Ключові слова: пшениця, множинні молекулярні форми ферментів, експресивність генів, *Bt*-гени.

Вивчення закономірностей фенотипового прояву окремих генів, які складають конкретний геном, дослідження впливу різноманітних чинників на експресію генів у складі цілісного генотипу мають велике теоретичне, а також практичне значення для селекції. Вагому роль в експресивності тієї чи іншої ознаки грає міжгалельна та міжгенна взаємодія [1]. Результатом добору алельних та неалельних генів, який проходить під тиском умов довкілля, є формування у генотипів популяції так званих адаптивних комплексів генів — АКГ [2], які забезпечують оптимальний рівень адаптованості організмів, а в подальшому можуть визначати напрямки мікро- та макроеволюції. Відомо, що адаптація рослин до несприятливих умов обумовлена двома типами генів — специфічними та неспецифічними. Перші формують так звану вертикальну стійкість, а другі безпосередньо забезпечують процеси метаболізму, що складає основу так званої горизонтальної стійкості до несприятливих умов. Згідно із концепцією В. М. Тоцького [2], гени

специфічної стійкості грають роль інтеграторів та модифікаторів, які об'єднують та регулюють функції інших генів, генів ферментів тощо. Механізм впливу генів специфічної стійкості на формування АКГ та вимоги, яким повинен відповідати конкретний алельний склад АКГ, досі не з'ясовано. У сучасній генетиці важливим експериментальним підходом став аналіз множинних молекулярних форм ферментів, який дозволяє вирішувати низку прикладних та теоретичних питань. У зв'язку з вищесказаним аналіз експресивності ізоформ ферментів у споріднених організмів, які відрізняються певним рівнем адаптованості, сприяє, на наш погляд, з'ясуванню генетичних механізмів філогенетичної адаптації і дивергенції у живій природі.

Метою даної роботи є порівняння електрофоретичних спектрів деяких ферментів у споріднених ліній озимої м'якої пшениці, в які інтрогресовані від *Aegilops cylindrica* Host. гени стійкості до мікопатогенів, та зіставлення спектрів цих ліній з електрофорограмами їх батьків. Роботу виконували за планом договірної бюджетної теми (держбюджет, № держреєстрації 0104U01083, код КПКВ 2201030 "Надання грантів Фондом фундаментальних досліджень", КЕКВ 1170).

Матеріали і методи

В дослідженнях використовували етіольовані тижневі паростки наступних ліній пшениці:

1) 7/31-91 та отримані після схрещувань її дочірні лінії — ф182/04, ф14 М/04, ф18 М/04, ф25 М/04, ф29 М/04, ф30 М/04, ф38 М/04, ф41 М/04, ф54 М/04, ф97 М/04;

2) 5/55-91 та її дочірні лінії — ф134/04, ф63/04, ф67/04, ф225/04, ф278/04, ф279/04, ф284/04.

Вищезазначені форми рослин створено у відділі фітопатології Одеського селекційно-генетичного інституту. Лінії 7/31-91 і 5/55-91 отримано після схрещування сорту озимої м'якої пшениці Одеська напівкарликова з *Ae. cylindrica* [3, 4]. Решта рослинних форм є результатом добору після схрещування вищезазначених ліній з Одеською напівкарликовою та лінією пшениці Л23397. Всі досліджувані лінії є генетично вирівняні, цитогенетично стабільні та мають високу або дуже високу стійкість до бурої листової іржі та твердої сажки, яка генетично має походження від дикого родича [5–7].

Досліджували наступні ген-ензимні системи: пероксидази (ПО), фенолоксидази (ФО), супероксиддисмутази (СОД), естераз та ксантиноксидази. Екстракцію та електрофоретичний розподіл множинних молекулярних форм (ММФ) ферментів провадили, як було вказано раніше [8]. В якості субстратів для виявлення ПО використовували бензидин або пірокатехін [9]. ФО ідентифікували на електрофорограмах по [10], СОД — по [11], естеразу і ксантиноксидазу — по [12].

Для аналізу електрофорограм використовували комп'ютерну програму АнаІС (М. А. Поджарський, Д. Г. Рибалка, podzharsky@ukr.net), за допомогою якої для кожної ізоформи досліджуваного ферменту визначали коефіцієнт відносної електрофоретичної рухливості (*Rf*), відносну частку у загальному спектрі ферменту (%) та її активність в умовних одиницях (пікселях).

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel.

Результати досліджень та їх аналіз

З генетичної точки зору всі досліджувані лінії дуже близькі між собою: вони отримані в результаті схрещування одних і тих же батьків. З іншого боку, всі вони характеризуються високою стійкістю до таких патогенних грибів, як збудники бурої листової іржі та твердої сажки. Генетичне походження генів стійкості до мікопатогенів у цих ліній теж однакове: відповідно *Lr*- та *Bt*-гени від *Ae. cylindrica*. В зв'язку з цим даний рослинний матеріал є цікавою моделлю для аналізу особливостей формування алельного складу АКГ з конкретними адаптивними властивостями, а також для з'ясування впливу генів специфічної стійкості на експресію генів горизонтальної стійкості, якими є досліджувані ген-ензимні системи.

Використані лінії об'єднані у дві групи (серії) відповідно походженню рослинних генотипів. Для окремої групи ліній розраховували середні показники визначених ізоформ ферментів. Ці дані наведені у вигляді денситограм, узагальнених для кожної серії ліній (рис. 1-3). Для порівняння показані спектри ферментів батьків. Видно, що за більшістю показників спектрів досліджувані лінії обох груп близьче до Одеської напівкарликової, ніж до дикого співродича. Це цілком природно, оскільки за їх формування використовували бекроси на зазначені сорт м'якої пшениці [3, 4]. Все ж у окремих ліній проявляються певні ознаки, що властиві егілонсу.

У половини ліній (7/31-91, ф182, ф18, ф25, ф29, ф30, а також 5/55-91, ф63, ф284) за наявності в інкубаційному середовищі бензидину експресується молекулярна форма ПО з *Rf* 0,02, яка є специфічною для *Ae. cylindrica*. Лише у однієї лінії (ф134) проявляється властива егілонсу ізоформа пероксидази з *Rf* 0,12 (рис. 1, а). Тому на узагальнених денситограмах піки у відповідних зонах виглядають значно меншими, ніж у випадку егілонсу. За використання в якості субстрату пірокатехіну у спектрах пероксидази зазначених ліній спостерігаються кількісні відмінності у порівнянні з *Ae. cylindrica*, але лише в повільно рухомій зоні ферменту (рис. 1, б).

Егілонсу властива сильно виражена експресія ізоформи фенолоксидази (рис. 2, а) з *Rf* 0,42: її частка від загальної активності ферменту у цьому випадку становить 5,54 %. Така і навіть більша частка зазначеної ізоформи фенолоксидази спостерігається у материнських для кожної серії ліній — 7/31-91 і 5/55-91, у яких частка зазначеної ізоформи складає 9,76 % та 6,18 % відповідно. Одеська напівкарликова виявляє слабку експресивність цієї форми ФО (2,14 % від загальної активності). Така ж низька активність спостерігається у більшості (блія 90 %) дочірніх ліній і складає в середньому $1,78 \pm 0,14\%$ ($P < 0,05$). Егілонс має меншу інтенсивність тих форм ФО, які розташовані в діапазоні *Rf* від 0,15 до 0,23, їх частка в загальному спектрі становить 19,88 %. У Одеської напівкарликової, навпаки, частка цих ізоформ є значно більшою — 30,48 %. Частина ліній (7/31-91, ф63,

ф67, ф225, тобто 16 % від їх загальної кількості) характеризується, як і дикий співродич — егілопс, меншою експресивністю зазначених ізоформ ($21,95 \pm 1,01$ % від загальної активності), інші — більш високою ($27,26 \pm 2,65$ % від загального спектру при $P < 0,01$).

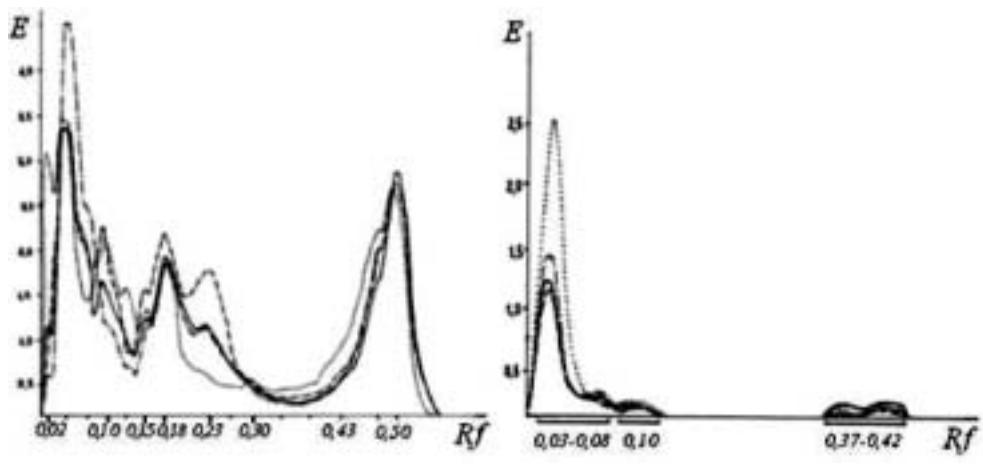


Рис. 1. Спектри пероксидази (а — субстрат бензидин, б — субстрат пірокатехін):
 — *Ae. cylindrica*, ----- — Одеська напівкарликова, — — 7/31-91 та
 похідні лінії, — · — · — 5/55-91 та похідні лінії.
 По осі ординат — оптична щільність в умовних одиницях (пікселях),
 по осі абсцис — електрофоретична рухливість ізоформи

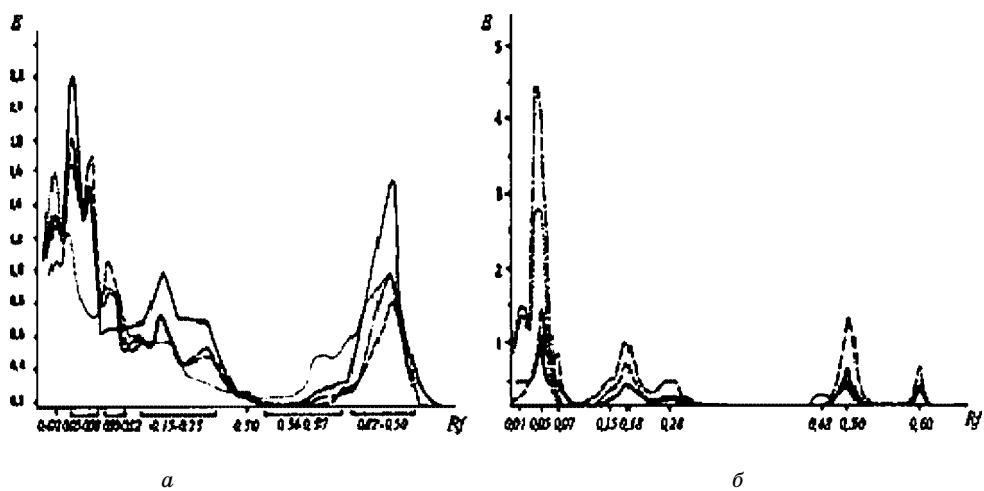


Рис. 2. Спектри фенолоксидази (а) та супероксиддисмутази (б):
 — *Ae. cylindrica*, ----- — Одеська напівкарликова, — — 7/31-91 та
 похідні лінії, — · — · — 5/55-91 та похідні лінії.
 По осі ординат — оптична щільність в умовних одиницях (пікселях),
 по осі абсцис — електрофоретична рухливість ізоформи

Спектр СОД (рис. 2, б) у егілопса дуже бідний і містить лише 5 ізоформ. Основну частку (блізько 90 %) складають малорухливі форми (R_f 0,01 і 0,05). Одеська напівкарликова має більш різноманітний спектр цього ферменту (8 форм), при цьому форми малорухливої зони складають у цього сорту лише біля 55 %. Близчим до егілопсу є спектр СОД у ліній, отриманих після першого етапу схрещування (7/31-91 та 5/55-91). У цих ліній спектр СОД містить додатково одну-две ізоформи, які виявляють значно меншу експресивність, ніж у Одеської напівкарликової. Решта ліній займають проміжне становище між егілопсом та м'якою пшеницею. Слід зазначити, що *Ae. cylindrica* відрізняється від інших досліджуваних рослин наявністю ММФ супероксиддисмутази з R_f 0,48. Ця форма СОД не спостерігається ні у сорту Одеська напівкарликова, ні у гібридів цього сорту з егілопсом.

Спектр ксантиноксидази (рис. 3, а) у *Ae. cylindrica* має добре помітну повільно рухливу форму з R_f 0,02, яка не виявляється у пшениці сорту Одеська напівкарликова, а також у досліджуваних ліній.

Якісними особливостями спектру естераз (рис. 3, б) у випадку егілопсу виступають дві ознаки: присутність форми з відносною електрофоретичною рухомістю 0,32 та відсутність ММФ з R_f 0,08. У Одеської напівкарликової спостерігається протилежне: немає смуги з R_f 0,32 та є форма з R_f 0,08. Більшість ліній (79 %) за спектром естераз уподоблюються м'якій пшениці. Решта ліній (21 %) займають проміжне положення. Дві з них (5/55-91 і ф134) не мають, як і егілопс, форм естерази з R_f 0,08, але у них відсутня також форма з R_f 0,32. В протилежність цьому лінії 7/31-91 та ф63 утримують обидві ізоформи естераз.

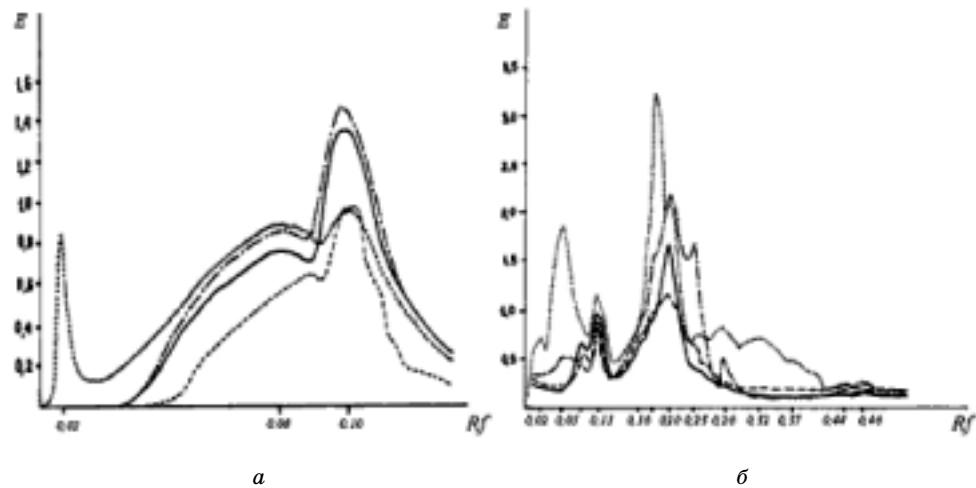


Рис. 3. Спектри ксантиноксидази (а) та естераз (б): — *Ae. cylindrica*, - - - - — Одеська напівкарликова, — — — 7/31-91 та похідні ліній, - · - · - — 5/55-91 та похідні ліній.

По осі ординат — оптична щільність в умовних одиницях (пікселях),
по осі абсцис — електрофоретична рухливість ізоформи

Ген-ензимні системи у споріднених ліній пшениці

Наведені дані свідчать про те, що у фенотипі (у даному випадку — показники спектрів кожної лінії) виявляються лише окремі ознаки попередників, і комбінації цих ознак є досить специфічними для конкретного генотипу. Зіставлення спектрів досліджуваних ферментів у ліній та вихідних батьківських форм дозволяє зробити висновок, що експресивність ген-ензимних систем у ліній гібридного походження не є простою сумою дії наявних генів та їх алелей, або резултатом повного домінування або кодомінування. У схожих генотипів можливі різні варіанти прояву генів ферментів у порівнянні з батьківськими формами: співпадіння фенотипових проявів, зростання або зменшення рівня експресії певних ознак та виникнення нових комбінацій ізоформ. Цей висновок підтверджується також аналізом білків у пшенично-житніх амфігаплоїдів F_1 , тритикале та їх батьків [13]. Складний характер фенотипового прояву досліджуваних ген-ензимних систем у ліній гібридного походження свідчить також про полігенну детермінацію цих ферментів, що збільшує гнучкість метаболізму і, тим самим, підвищує адаптивні спроможності рослин.

В таблицях 1–3 порівнюються дані, отримані за аналізом двох серій ліній, отриманих після схрещування Одеської напівкарликової зегілопсом. Представлено середні значення по кожній групі та наведено лише ті форми ферментів, для яких виявлено достовірні міжлінійні розходження. Видно, що лінії відрізняються не тільки від своїх батьків, але й, незважаючи на значну спорідненість, і між собою. Розбіжності між групами ліній були виявлені в усіх досліджуваних ген-ензимних системах за багатьма параметрами електрофоретичних спектрів.

Таблиця 1
Активність окремих ферментів та їх ізоформ у різних генотипів пшениці

Ферменти та їх ізоформи	Активність у групі ліній		Рівень достовірності розходжень між групами ліній (P)	Кореляція з кількістю <i>Bt</i> -генів (r) та рівень її достовірності (P)
	7/31-91 та похідні*	5/55-91 та похідні*		
ПО (субстрат: бензидин), <i>Rf</i> 0,05 – 0,08	375,65 ± 17,91	461,75 ± 20,60	0,006	r = - 0,51, P < 0,05
ПО (субстрат: пірокатехін), <i>Rf</i> 0,05 – 0,08	47,77 ± 1,60	56,91 ± 4,48	0,05	r = - 0,55, P < 0,05
ПО (субстрат: пірокатехін), <i>Rf</i> 0,10	9,17 ± 0,48	7,63 ± 0,52	0,04	r = 0
ПО (субстрат: пірокатехін), <i>Rf</i> 0,37 – 0,42	24,42 ± 1,87	14,13 ± 2,54	0,006	r = 0,68, P < 0,01
ФО, <i>Rf</i> 0,10 – 0,12	59,49 ± 2,38	81,05 ± 7,80	0,03	r = - 0,64, P < 0,01
ФО, <i>Rf</i> 0,15 – 0,23	271,47 ± 18,47	207,80 ± 34,22	0,014	r = 0

Закінчення таблиці 1

Ферменти та їх ізоформи	Активність у групі ліній		Рівень достовірності розходжень між групами ліній (P)	Кореляція з кількістю <i>Bt</i> -генів (r) та рівень її достовірності (P)
	7/31-91 та похідні*	5/55-91 та похідні*		
ФО, <i>Rf</i> 0,42 – 0,57	288,90 ± 10,47	263,11 ± 26,00	0,0001	r = 0
ФО, сумарна активність	1002,96 ± 30,14	882,97 ± 35,02	0,006	r = 0,46, P < 0,05
СОД, <i>Rf</i> 0,01	23,53 ± 4,54	51,89 ± 4,06	0,0002	r = - 0,43, P < 0,05
СОД, <i>Rf</i> 0,05	64,87 ± 9,93	269,94 ± 28,17	0,0001	r = 0,80, P < 0,01
СОД, <i>Rf</i> 0,07	16,81 ± 2,94	4,47 ± 4,47	0,038	r = 0
СОД, <i>Rf</i> 0,15	2,42 ± 1,63	17,02 ± 3,73	0,005	r = - 0,72, P < 0,01
СОД, <i>Rf</i> 0,18	32,89 ± 6,58	50,54 ± 5,95	0,05	r = - 0,47, P < 0,05
СОД, <i>Rf</i> від 0,01 по 0,05	88,40 ± 13,43	321,83 ± 30,66	0,0001	r = - 0,77, P < 0,01
СОД, <i>Rf</i> від 0,15 по 0,18	35,32 ± 7,92	67,56 ± 7,33	0,008	r = - 0,62, P < 0,01
СОД, сумарна активність	189,87 ± 18,89	451,66 ± 29,96	0,0001	r = - 0,83, P < 0,01
Естерази, <i>Rf</i> 0,16	20,57 ± 2,22	40,94 ± 4,42	0,003	r = - 0,66, P < 0,01
Естерази, <i>Rf</i> 0,22	26,00 ± 3,87	49,38 ± 10,47	0,033	r = - 0,44, P < 0,05
Естерази, <i>Rf</i> 0,26	3,89 ± 3,89	16,67 ± 3,23	0,022	r = 0
Естерази, <i>Rf</i> 0,37	1,41 ± 0,52	4,87 ± 1,58	0,043	r = - 0,47, P < 0,05
Естерази, <i>Rf</i> 0,44	3,11 ± 0,47	8,69 ± 1,01	0,0001	r = - 0,69, P < 0,01
Естерази, <i>Rf</i> 0,46	3,14 ± 0,47	8,02 ± 0,76	0,0001	r = - 0,68, P < 0,01
Естерази, <i>Rf</i> від 0,02 по 0,18	127,27 ± 10,01	177,22 ± 18,09	0,034	r = - 0,50, P < 0,05
Естерази, сумарна активність	227,34 ± 27,30	337,35 ± 38,40	0,036	r = - 0,44, P < 0,05

Примітка: * — наведено середні арифметичні значення активності (умовні одиниці) для групи ліній та їх стандартна помилка, r = 0 — значення коефіцієнта не достовірно.

З таблиці 1 видно, що існують істотні генотипові відмінності загальnoї активності фенолоксидази, естераз і СОД, а також активності окремих ізоформ усіх досліджуваних ферментів. Крім різниці в активності,

кожна група ліній має також своєрідний розподіл ізоформ в спектрі окремого ферменту, про що свідчать наведені дані про відносні частки ізоформ від загальної активності відповідного ферменту (табл. 2).

Таблиця 2
Відносні частки ізоформ в спектрі окремих ферментів у різних генотипів пшениці

Ферменти та їх ізоформи	Відносні частки ізоформ у групі ліній		Рівень достовірності розходжень між групами ліній (P)	Кореляція з кількістю <i>Bt</i> -генів (r) та рівень її достовірності (P)
	7/31-91 та похідні*	5/55-91 та похідні*		
ПО (субстрат: бензидин), <i>Rf</i> 0,34 – 0,37	4,47 ± 0,18	3,91 ± 0,21	0,05	r = 0
ПО (субстрат: пірокатехін), <i>Rf</i> 0,05 – 0,08	59,02 ± 1,29	72,60 ± 2,54	0,001	r = - 0,80, P < 0,01
ПО (субстрат: пірокатехін), <i>Rf</i> 0,10	11,31 ± 0,46	9,81 ± 0,54	0,05	r = 0
ПО (субстрат: пірокатехін), <i>Rf</i> 0,37 – 0,42	29,67 ± 1,20	17,58 ± 2,63	0,002	r = 0,77, P < 0,01
ФО, <i>Rf</i> 0,05 – 0,08	24,14 ± 0,62	28,22 ± 0,87	0,002	r = 0
ФО, <i>Rf</i> 0,10 – 0,12	5,95 ± 0,24	9,14 ± 0,60	0,0008	r = - 0,50, P < 0,05
ФО, <i>Rf</i> 0,34 – 0,37	3,24 ± 0,12	3,69 ± 0,18	0,05	r = 0
ФО, <i>Rf</i> 0,42 – 0,57	29,01 ± 1,39	24,30 ± 1,03	0,014	r = 0,58, P < 0,01
СОД, <i>Rf</i> 0,05	34,40 ± 3,53	58,74 ± 2,85	0,0001	r = - 0,68, P < 0,01
СОД, <i>Rf</i> 0,07	9,65 ± 1,64	0,79 ± 0,79	0,0003	r = - 0,68, P < 0,01
СОД, <i>Rf</i> 0,15	0,99 ± 0,66	3,80 ± 0,89	0,024	r = - 0,60, P < 0,01
СОД, <i>Rf</i> 0,50	15,34 ± 1,85	6,89 ± 0,96	0,001	r = - 0,58, P < 0,01
СОД, <i>Rf</i> від 0,01 по 0,05	45,79 ± 4,68	70,43 ± 2,77	0,0004	r = - 0,52, P < 0,05
Естерази, <i>Rf</i> 0,11	19,92 ± 1,58	11,28 ± 1,03	0,0003	r = 0,65, P < 0,01
Естерази, <i>Rf</i> 0,20	23,31 ± 1,54	17,28 ± 1,93	0,029	r = 0,51, P < 0,05
Естерази, <i>Rf</i> 0,26	0,80 ± 0,80	4,82 ± 0,77	0,002	r = - 0,51, P < 0,05
Естерази, <i>Rf</i> 0,37	0,58 ± 0,18	1,29 ± 0,25	0,039	r = 0
Естерази, <i>Rf</i> 0,44	1,40 ± 0,21	2,74 ± 0,37	0,01	r = - 0,55, P < 0,01
Естерази, <i>Rf</i> 0,46	1,39 ± 0,20	2,56 ± 0,34	0,014	r = - 0,50, P < 0,05

Примітка: * — наведено середні арифметичні значення відносної частки (%) для групи ліній та їх стандартна помилка, r = 0 — значення коефіцієнта не достовірно

Таблиця 3
Співвідношення експресивності окремих ген-ензимних систем у різних генотипів пшениці

Показники	Експресивність у групі ліній		Рівень достовірності розходжень між групами ліній (P)	Кореляція з кількістю <i>Bt</i> -генів (r) та рівень її достовірності (P)
	7/31-91 та похідні*	5/55-91 та похідні*		
Специфічність пероксидази <i>Rf</i> 0,34 – 0,50	1,17 ± 0,03	2,18 ± 0,28	0,008	r = - 0,64, P < 0,01
ПО / ФО, <i>Rf</i> 0,34 – 0,37 (субстрат ПО: бензидин)	1,39 ± 0,07	1,10 ± 0,06	0,005	r = 0,66, P < 0,01
ПО / ФО, <i>Rf</i> 0,42 – 0,57 (субстрат ПО: бензидин)	1,04 ± 0,04	1,24 ± 0,07	0,034	r = - 0,48, P < 0,05
ПО / ФО, <i>Rf</i> 0,10 – 0,12 (субстрат ПО: пірокатехін)	1,95 ± 0,15	1,09 ± 0,07	0,0001	r = 0,63, P < 0,01
ПО / ФО, <i>Rf</i> 0,34 – 0,57 (субстрат ПО: пірокатехін)	0,93 ± 0,03	0,63 ± 0,10	0,018	r = 0,67, P < 0,01
Відношення ксантиноксидазної активності до супероксид-дисмутазної активності	0,47 ± 0,08	0,17 ± 0,60	0,003	r = 0,63, P < 0,01

Примітка: * — наведено середні арифметичні значення для групи ліній та їх стандартна помилка; ПО / ФО — відношення пероксидазної активності до фенолоксидазної активності в окремій електрофоретичній зоні

Відомо, що загальний обмін речовин живих організмів обумовлюється не тільки станом окремих ферментних систем, але й їх співвідношенням. Тому для характеристики ген-ензимних систем досліджуваних ліній застосували також деякі відносні показники (табл. 3). Визначали субстратну специфічність окремих ізоформ пероксидази, розраховуючи співвідношення частки даної ізоформи у загальному спектрі ферменту за фарбування одним субстратом (бензидином) і частки за виявлення пероксидази іншим субстратом (пірокатехіном). Пероксидазна та фенолоксидазна активності тісно взаємодіють одна з одною і, можливо, пов'язані з одним білком [14]. В зв'язку з цим по кожній окремій електрофоретичній зоні розраховували відношення пероксидазної активності, яка виявлялася в цій зоні, до фенолоксида-

зної активності в ній. Загальний стан клітини залежить також від концентрації в ній активних форм кисню, що визначається, з одного боку, дією агентів, що сприяють виникненню активного кисню (зокрема, ксантиноксидази) та, з іншого боку, активністю агентів, знешкоджуючих його (зокрема, супероксиддисмутази та пероксидази) [15]. З таблиці 3 видно, що за вищезазначеними відносними показниками між досліджуваними лініями також існують суттєві розбіжності.

Слід зазначити, що досліджувані лінії були отримані як вихідний матеріал для селекції стійких до грибних патогенів сортів пшениці. В зв'язку з цим важливим є порівняння особливостей спектрів досліджуваних ферментів у лінії з різним рівнем стійкості до грибних хвороб. За стійкістю до бурої листової іржі обидві групи ліній достовірно не відрізняються ($7,8 \pm 0,2$ бала у лінії 7/31-91 та її похідних ліній, $8,2 \pm 0,2$ бала у 5/55-91 та її похідних). За резистентністю до твердої сажки різниця між цими групами ліній є достовірною ($7,9 \pm 0,3$ та $8,8 \pm 0,2$ бала відповідно, $P = 0,04$). Незважаючи на існуючі відмінності, досліджувані лінії за стійкістю до бурої листової іржі та твердої сажки не є контрастними і відносяться згідно з загально-прийнятими стандартами [16] до одного класу "дуже високо стійких - високо стійких" рослин, тобто до одного і того ж адаптивного типу за резистентністю до зазначених мікопатогенів. В зв'язку з цим є зрозумілим, чому в межах досліджуваної вибірки рослин кореляції між характеристиками спектрів ферментів та ознакою резистентності генотипів не виявлено. Таким чином, рівень стійкості досліджуваних рослин до мікопатогенів не пов'язаний з відмінностями електрофоретичних спектрів ферментів.

Вище було зазначено, що досліджувані лінії отримали гени стійкості до грибних хвороб у результаті міжвидового схрещування м'якої пшениці з *Ae. cylindrica*. За кількістю генів стійкості до бурої листової іржі лінії 7/31-91 і 5/55-91 не різняться між собою [4, 17], але вони мають різну кількість генів резистентності до твердої сажки (*Bt*-генів): два та один відповідно [5]. Цілком вірогідно, що похідні від зазначених ліній форми, у крайньому випадку більшість із них, будуть мати таку ж кількість *Bt*-генів, як і їх попередники. Таке припущення добре узгоджується із статистично встановленим рівнем взаємозв'язку між особливостями спектрів ферментів у лінії і встановленою та передбачуваною кількістю в них *Bt*-генів: за багатьма (39 із 49) показниками, які характеризують спектри ферментів, коефіцієнт кореляції є достовірним (табл. 1-3).

Слід відмітити, що добір за отримання досліджуваних ліній провадили на одну головну ознаку, а саме — на стійкість до грибних хвороб, внаслідок чого отримували різні за генотипом, але схожі за ознакою адаптивності лінії. На основі отриманих результатів та проведенного обговорення можна сформулювати наступні припущення. Під тиском лише одного селективного чинника можливе формування різноманітних блоків коадаптованих генів з декількома варіантами алергального складу генів, які забезпечують необхідний адаптаційний потенціал. Певна множина таких АКГ в популяції є генетичною основою вертикальної і горизонтальної стійкості рослин.

Висновки

- 1) Досліджувані споріднені лінії відрізняються одна від одної та від батьків електрофоретичними спектрами пероксидази, фенолоксидази, супероксиддисмутази, естераз та ксантиноксидази.
- 2) Експресія генів досліджуваних ферментів у лінійних рослин, отриманих після міжвидового схрещування, не є результатом простої, адитивної взаємодії генів попередників; можливі різні варіанти експресії генів: незмінність прояву у порівнянні з вихідними формами, підсилення або зменшення рівня цієї експресії, а також інші варіанти взаємодії генів.
- 3) Експресивність ферментів та їх окремих ізоформ досліджуваних ліній корелює із встановленою та теоретично передбачуваною у рослин кількістю *Bt*-генів.
- 4) Однаковий адаптаційний потенціал рослин може забезпечуватися різними варіантами адаптаційних комплексів генів.

Література

1. Тоцький В. М. Генетика. — Одеса: Астропrint, 2002. — 712 с.
2. Тоцький В. Н., Хаустова Н. Д., Алшибіли Н. М., Сечняк А. Л. Генетико-биохимические механизмы онтогенетической и филогенетической адаптации // Цитология и генетика. — 2002. — Т. 36, № 3. — С. 69–75.
3. Бабаянц Л. Т., Рибалка О. І., Аксельруд Д. В. Нове джерело стійкості пшениці до основних хвороб // Реалізація потенційних можливостей сортів і гібридів Селекційно-генетичного інституту у умовах України: Зб. наук. праць. — Одеса, 1996. — С. 111–116.
4. Аксельруд Д. В., Рыбалка А. И., Карпюк Ю. Н., Хохлов А. Н., Нагуляк О. И. Создание гибридов озимой мягкой пшеницы с *Aegilops cylindrica*, их изучение и перспективы // Цитология и генетика. — 1997. — Т. 31, № 4. — С. 45–51.
5. Бабаянц Л. Т., Дубинина Л. А., Ющенко Г. М. Выявление неаллельных известных генов устойчивости к *Tilletia caries* (DC) Tul. линий пшеницы от межвидовой гибридизации (*Triticum aestivum* x *Aegilops cylindrica*) // Цитология и генетика. — 2000. — Т. 34, № 4. — С. 32–40.
6. Мирош С. Л., Бабаянц Л. Т. Генетичні основи стійкості ліній озимої м'якої пшениці до збудника фузаріозу колоса *Fusarium graminearum* LK. // Вісник ОНУ. — 2001. — Т. 6, Вип. 1. — С. 67–71.
7. Бабаянц Л. Т., Дубинина Л. А., Барановская В. Л., Палясний В. А. Интрогрессия в пшеницу новых генов устойчивости к возбудителю твердой головни. Зб. наук. праць СГІ. — Одеса, Вип. 2 (42). — 2002. — С. 70–75.
8. Топтіков В. А., Мирош С. Л., Дъяченко Л. Ф., Тоцький В. Н., Залогина М. А. Сопряженность устойчивости озимых мягких пшениц к *Fusarium graminearum* Schwabe. и множественных молекулярных форм некоторых ферментов // Цитология и генетика. — 2002. — Т. 36, № 3. — С. 3–11.
9. Сафонов В. И., Сафонова М. Р. Исследование белков и ферментов растений методом электрофореза в поликарбамидном геле // Биохимические методы в физиологии растений. — М.: Наука, 1971. — 113 с.
10. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П. и др. Методы биохимического исследования растений. — Л.: Агропромиздат, 1987. — 430 с.
11. Гааль Э., Медьеши Г., Верецкей Л. Электрофорез в разделении биологических молекул. — М.: Мир, 1965. — 448 с.
12. Левитес Е. В. Генетика изоферментов растений. — Новосибирск: Наука, 1986. — 144 с.
13. Гордей И. А. Тритикале: Генетические основы создания. — Минск: Навука і тэхніка, 1992. — 287 с.

14. Рубин Б. А., Ладыгина М. Е. Физиология и биохимия дыхания растений. — М.: Изд-во Московского университета, 1974. — 512 с.
15. Дмитриев А. П. Сигнальные системы иммунитета растений // Цитология и генетика. — 2002. — Т. 36, № 3. — С. 58–68.
16. Бабаянц Л. Т., Мештерхази А., Вехтер Ф. и др. Методы селекции и оценка устойчивости пшеницы и ячменя к болезням в странах-членах СЭВ. — Прага, 1988. — С. 125–208.
17. Бабаянц Л. Т., Васильев А. А., Новицкая Н. А. Генетическая основа устойчивости межвидовых гибридов пшеницы к *Russinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici* // Цитология и генетика. — 1998. — Т. 32, № 6. — С. 20–26.

В. А. Топтиков¹, Л. Ф. Дьяченко¹, В. Н. Тоцкий¹, Л. Т. Бабаянц²

¹ Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

² Селекционно-генетический институт,
Овидиопольская дор., 3, Одесса, 65036, Украина

ЭКСПРЕССИВНОСТЬ ГЕН-ЭНЗИМНЫХ СИСТЕМ У РОДСТВЕННЫХ ЛИНИЙ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ, УСТОЙЧИВЫХ К МИКОПАТОГЕНАМ

Резюме

Проведен электрофоретический анализ изоформ пероксидазы, фенолоксидазы, эстераз, супероксиддисмутазы и ксантиноксидазы близкородственных линий озимой мягкой пшеницы, содержащих интрагрессированные из *Aegilops cylindrica* гены резистентности к микопатогенам. Исследуемые линии отличаются по электрофоретическим спектрам ферментов как между собой, так и от родителей. Экспрессия структурных генов изучаемых ферментов у линий гибридного происхождения не является результатом простого, аддитивного взаимодействия генов предшественников. Возможны разные варианты такого взаимодействия: исходный уровень проявления, усиление или ослабление уровня экспрессии изоформ по сравнению с родителями, или появление в спектрах ферментов новых комбинаций изоформ. Особенности спектров линий по большинству признаков коррелируют с известным и теоретически предполагаемым количеством *Bt*-генов.

Ключевые слова: пшеница, множественные молекулярные формы ферментов, экспрессивность генов, *Bt*-гены.

V. A. Toptikov¹, L. F. Diachenko¹, V. N. Totsky¹, L. T. Babayants²

¹ Odessa Mechnikov National University,
Department of Genetic and Molecular Biology,
Dvoryanskaya str., 2, Odessa, 65026, Ukraine

² Plant Breeding and Genetic Institute,
Ovidiopol'skaya St., 3, Odessa, 65036, Ukraine

**THE EXPRESSIONAL ABILITY OF GEN-ENZYMES SYSTEMS
OF WINTER SOFT WHEAT RELATIVE RESISTANCE TO
MYCOPATHOGENES LINES**

Summary

The electrophoretical isoforms analysis of peroxidase, phenol oxidase, esterase, superoxide dismutase and xanthine oxidase of relative lines of soft wheat held the genes of resistance to mycopathogenes, introgressed from *Aegilops cylindrica* have been studied. All the investigated lines and their parental forms were different by the electrophoretical spectra of the enzymes. The manifestation of the structural genes of the investigated enzymes wasn't the result of simple additive interaction. The different variants of the genes expressional are possible. Among them are the initial level of manifestation, intensification or weakening of expression level or appearance of new gene products combinations. The peculiarities of the lines spectra by the majority of features were correlated with the certain or prospective number of *Bt*-genes.

Keywords: wheat, multiple molecular forms of the enzymes, expression ability of the genes, *Bt*-genes.

УДК 577.222:595

Н. Д. Хаустова, канд. бiol. наук, доц., С. В. Белоконь, ст. инж.,
В. Н. Тоцкий, д-р бiol. наук, проф., зав. каф., И. В. Сургучова, студ.

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

ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗМНОЖЕНИЯ И КОМПОНЕНТЫ ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ МУТАНТОВ *VG И CN VG DROSOPHILA MELANOGASTER*

Изучали роль маркерных мутаций *sp* и *vg* в формировании приспособленности *Drosophila melanogaster*. Установили отрицательное влияние мутации *vg* на эффективность размножения мух, выражющееся в постепенной элиминации мутантных гомозигот в экспериментальных популяциях дрозофилы. Сочетание в генотипе мутантов *vg* маркерной мутации с мутацией *sp* привело к повышению приспособленности мух по большинству исследуемых показателей, за исключением устойчивости к голоданию.

Ключевые слова: приспособленность, дрозофилы, популяция, мутации.

Проблема выяснения механизмов приспособленности является общебиологической проблемой, актуальной как для теории эволюции, так и для практической генетики и селекции. Известно, что естественный отбор благоприятствует некоторым особям популяции и таким образом изменяет частоты генов, контролирующих те или иные признаки. Для правильной оценки приспособленности нужно выйти за пределы лабораторных исследований в реальный мир, а это сопряжено со специфическими трудностями, которые зависят от особенностей изучаемого объекта. Использование в качестве объекта популяционных исследований дрозофилы привело к значительным успехам в этой области.

В качестве компонент приспособленности обычно оценивают репродуктивную активность и жизнеспособность организма, которые, в свою очередь, обеспечиваются как особенностями генотипа, так и внешними условиями, действию которых он подвергается.

К сожалению, в каждом отдельном эксперименте обычно измеряются лишь немногие (или только один) из факторов приспособленности. Между тем с эволюционной точки зрения важен вопрос о взаимоотношениях между такими факторами [1].

В соответствии с вышеизложенным, целью данной работы явилось изучение роли маркерных мутаций *sp* и *vg* в формировании приспособленности *Drosophila melanogaster*.

Материалы и методы исследований

Материалом для исследований служила *Drosophila melanogaster*. В опытах использовали одинарных (*sp*, *cinnabar*; *vg*, *vestigial*) и двойных

(*cn vg, cinnabar vestigial*) мутантов дрозофилы. Оба мутантных гена локализованы в хромосоме 2. Мутации рецессивны, в гомозиготе проявляются фенотипически редукцией крыльев (*vg*) и ярко-красной окраской глаз (*cn*) [2].

Исходные популяции (семьи) создавали в пробирках (20 мл), сочетаая самку *vg* с самцом *cn vg*, и обозначали как F_0 . Потомков (F_1) каждой семьи переносили в большие по размеру сосуды (200 мл) для получения F_2 .

Всех мух из F_2 каждой баночной популяции (повторность опыта десятикратная) анализировали по маркерному признаку и определяли фенотипический состав экспериментальных популяций.

Частоты генов и генотипов в популяциях рассчитывали, используя формулу Харди-Вайнберга: $p^2 + 2pq + q^2 = 1$.

Плодовитость мух определяли по числу потомков (имаго) одной пары, содержащейся в пробирке (20 мл) на протяжении 3-х дней [3].

Продолжительность жизни мух на стандартной среде определяли, помещая в пробирки по 10 особей каждого пола. Подсчет живых мух вели ежедневно, смену корма осуществляли на 5-й день, результаты выражали в днях, на которые пришла гибель 50 % мух (L_{t50}) [4].

Выживаемость мух при голодании определяли, помещая их в пробирки без корма (по 10 особей каждого пола). Подсчет выживших мух в течение первых суток нахождения на голодной диете проводили через каждые 6 часов, а в дальнейшем через каждые 3 часа до полной гибели особей в каждой пробирке и выражали в часах, на которые пришла гибель 50 % мух.

Для определения *теплоустойчивости* 3-дневных мух подвергали действию сублетальной температуры (L_{t50} для дикого типа). В пробирки помещали по 10 особей каждого пола и прогревали их в водном термостате 15 мин при 41 °С, по истечению суток вели учет выживших особей. Термоустойчивость выражали в процентах отношением числа выживших мух к числу прогретых [5, 6].

Математическую обработку полученных результатов производили общепринятыми методами вариационной статистики по Стьюденту [7].

Достоверность совпадения экспериментально полученных и теоретически ожидаемых расщеплений в F_2 оценивали по методу χ^2 [7].

Результаты исследований и их анализ

Понимая приспособленность генотипа как его относительную способность вносить вклад в будущие поколения, определяли эффективность размножения исследуемых мутантов в экспериментально созданных популяциях и показатели приспособленности (выживаемость и плодовитость) у линейных мух.

В генетике используют понятие идеальной и реальной популяций. Идеальной называют популяцию, состоящую из неограниченного количества особей, свободно скрещивающихся между собой. Такая популяция должна быть полностью изолирована и на нее не должны действовать факторы, способные нарушать ее структуру. Реальные (естественные) популяции, в границах которых осуществляются случайные

Эффективность размножения и компоненты приспособленности

свободные скрещивания, называются панмиктическими или менделевскими. В них действуют менделевские законы наследования и расщепления [8].

Используемые в эксперименте искусственно созданные менделевские популяции дрозофилы были составлены из мутантов *vg* и *cp vg*, различающихся только по одному признаку — окраске глаз. Поскольку этот признак контролируется моногенно, можно ожидать, что расщепление по окраске глаз в F_2 будет соответствовать менделевскому — 3 (доминантный признак) : 1 (рецессивный признак).

Так как все муhi в популяции несли признак редукции крыла (*vg*), ожидаемое распределение потомков F_2 по фенотипическим классам должно составить: 3 части муhi с нормальной (темно-красной) окраской глаз и редуцированными крыльями и 1 часть муhi с ярко-красными глазами и редуцированными крыльями.

Сопоставление теоретически ожидаемых и экспериментально полученных результатов (табл. 1), свидетельствует об отсутствии достоверного совпадения между ними. Как следует из данных, представленных в таблице, соотношение классов *vg* и *cp vg* составляет 2,4 : 1,6, что достоверно отклоняется от менделевского соотношения 3 : 1. Преобладание в популяции мутантов *cp vg* свидетельствует об их преимуществе в условиях эксперимента, то есть об их лучшей приспособленности.

Для анализа генетических процессов, происходящих в популяциях, используют закон Харди-Вайнберга. Хотя этот закон характеризует состояние в ряду поколений идеальной панмиктической популяции, он, в то же время, позволяет строить математические модели и определять динамику генетической структуры модельных популяций.

Таблица 1
Фенотипический состав исследуемых популяций дрозофилы в F_2
vg x cp vg

n = 10

Фенотипические классы	Генотипический состав	Количество потомков F_2		χ^2 для ожидаемого расщепления 3 : 1
		одной семьи ($M \pm m$)	общее	
<i>vg</i>	<i>++ vg vg</i> <i>+ cn vg vg</i>	316,10 ± 34,05*	3161	752**
	<i>cn cn vg vg</i>	221,50 ± 31,38*	2215	

Примечание: * — различия достоверны по сравнению с рецессивным классом (*cp vg*). ** — отклонение от теоретически ожидаемого расщепления достоверно.

Анализ генетической структуры исследуемых популяций представлен в таблице 2.

Приведенные в таблице данные свидетельствуют о разной частоте альтернативных аллелей гена *cp* в исследуемой экспериментальной популяции. Частота рецессивного аллеля (*cp*) в F_2 в 1,6 раза превы-

сила частоту доминантного аллеля (+), в то время как исходная популяция (F_0) была представлена равным числом аллельных генов.

О явном преимуществе мутантного аллеля свидетельствует и анализ частот генотипов. Экспериментальная популяция, составленная из равного количества доминантных и рецессивных по гену *sp* гомозигот, в F_2 была представлена преимущественно гетерозиготами и двойными мутантами (46% и 39% соответственно). Доля одинарных мутантов *vg vg* от общего числа потомков F_2 составила всего 15%.

Таблица 2
Генетическая структура исследуемых популяций дрозофилы
 $n = 10$ семей

Поколения (F)	Частота генотипов			Частота аллелей	
	$++\ vgvg$	$+ cn\ vg\ vg$	$cn\ cn\ vgvg$	+	<i>cn</i>
F_0	0,50	—	0,50	0,50	0,50
F_1	—	1,00	—	0,50	0,50
F_2	$0,15 \pm 0,02$	$0,46 \pm 0,01^*$	$0,39 \pm 0,06^*$	$0,38 \pm 0,08$	$0,62 \pm 0,08^{**}$

Примечание: * — различия достоверны по сравнению с частотой генотипа $++\ vg\ vg$.
** — различия достоверны по сравнению с частотой доминантного аллеля (+).

Известно, что панмиктические популяции постоянно подвергаются давлению разных факторов, среди которых одним из важнейших является фактор отбора. Отбор благоприятствует некоторым особям популяции и таким образом изменяет частоты генов, контролирующих те или иные признаки. Различают три основных вида отбора: направленный, действие которого направлено против аллеля, снижающего приспособленность; стабилизирующий, действующий в пользу гетерозигот; и дезруптивный, действующий против гетерозигот.

Представленные данные свидетельствуют о существовании направленного отбора против генотипа $++\ vg\ vg$, и о значительном преимуществе в исследуемой популяции рецессивного аллеля *cn*.

Эффективность размножения и компоненты приспособленности

Поскольку приспособленность зависит от плодовитости и жизнеспособности, ясно, что различия генотипов по эффективности размножения обусловлены их различиями по отдельным составляющим этого признака. Естественный отбор оценивает лишь суммарную приспособленность, таким образом, для выяснения путей адаптации необходимо изучение отдельных ее показателей.

О приспособленности линейных мух судили по их плодовитости, продолжительности жизни и выживаемости в экстремальных условиях (табл. 3).

Таблица 3
Компоненты приспособленности исследуемых мутантов дрозофилы
n = 10 – 20

Показатели приспособленности	Линии дрозофилы		
	<i>cinnabar (cn)</i>	<i>vestigial (vg)</i>	<i>cinnabar vestigial (cn vg)</i>
Плодовитость, количество потомков одной пары	43,70 ± 1,36* **	27,40 ± ,52**	36,00 ± 0,39*
Продолжительность жизни, дни ($L_{t_{50}}$)	8,26 ± 0,33* **	5,30 ± 0,26	5,73 ± 0,60
Выживаемость в условиях гипертермии, % выживших мух	51,58 ± 1,68*	37,42 ± ,04**	46,50 ± 3,45*
Выживаемость в условиях голодаания, часы ($L_{t_{50}}$)	46,50 ± 3,45*	58,20 ± ,22**	48,64 ± 2,01*

Примечание: * — различия достоверны по сравнению с линией *vg*. ** — различия достоверны по сравнению с линией *cn vg*.

Как следует из приведенных данных, максимальной плодовитостью среди исследованных линий обладают мутанты *cn*, а минимальной — мутанты *vg*. Двойные мутанты *cn vg* характеризуются промежуточным значением исследуемого признака.

Самыми короткоживущими среди изученных линий являются одинарные мутанты *vg*, продолжительность жизни которых в 1,6 раза меньше продолжительности жизни мутантов *sp*. Достоверно меньшей продолжительностью жизни (в 1,4 раза) отличаются от последних и двойные мутанты *sp vg*.

По признаку теплоустойчивости, так же как и по рассмотренным выше признакам плодовитости и продолжительности жизни, наименее приспособленными оказались мутанты *vg*, уступающие одинарным мутантам *sp* и двойным — *sp vg*.

В то же время мутанты *vg* проявили максимальную среди исследованных линий устойчивость к голоданию, превосходя по этому признаку мутантов *sp vg* и *sp*. Последние оказались наиболее чувствительными к отсутствию корма.

Тот факт, что мутанты *vg*, уступающие мухам других линий по приведенным ранее показателям приспособленности, превосходят их по устойчивости к голоданию, находит подтверждение в работах Кларка с соавторами [9], показавших, что при нормальном питании продолжительность жизни мутантов ниже, чем особей дикого типа, но при голодании эти различия не проявляются.

Факт высокой выживаемости мутантов *vg* в условиях голодания может быть одной из причин сохранения маркерного гена в природных популяциях дрозофилы, несмотря на его плейотропный эффект, сопровождающийся уменьшением приспособленности в стандартных условиях существования.

В литературе есть свидетельства плейотропного действия мутации *vg*, выражющегося в меньшей продолжительности жизни и более коротком репродуктивном периоде у мутантов по сравнению с мухами других линий [3, 9, 10, 11, 12, 13]. Пониженная жизнеспособность рецессивных гомозигот на разных стадиях их развития позволяет отнести ген *vg* к разряду сублетальных генов [8, 14, 15].

Учитывая вышесказанное, можно предположить, что сочетание в генотипе двойных мутантов мутации *sp* с сублетальной мутацией *vg* снижает вредное действие последней. Это предположение находит подтверждение в данных литературы, свидетельствующих о высокой приспособленности многих мутантов по окраске глаз [16].

Выводы

Двойные мутанты *sp vg* обладают большей эффективностью размножения по сравнению с одинарными мутантами *vg*.

В экспериментальных популяциях мутантов *vg* и *sp vg* естественный отбор направлен на увеличение частоты гена *sp* (ярко-красные глаза).

Мутанты *vg* обладают более низкой плодовитостью, устойчивостью к гипертермии и длительностью жизни по сравнению с мутантами *sp* и *sp vg*, но превосходят указанных линейных мух по устойчивости к голоданию.

Література

1. Эрман Л., Парсонс П. Генетика поведения и эволюция. — М.: Мир, 1984. — 566 с.
2. Медведев Н. Н. Практическая генетика. — М.: 1968. — 293 с.
3. Хаустова Н. Д. Локус Adh *Drosophila melanogaster* в условиях отбора на задержку старения // Генетика. — 1995. — Т. 31. — № 5. — С. 646–651.
4. Dorado D., Barbancho M. Differential responses in *Drosophila melanogaster* to environmental ethanol: modification of fitness components at Adh locus // Heredity. — 1984. — Vol. 53. — № 2. — Р. 309–320.
5. Некрасова А. В., Шахbazов В. Г. Длительность онтогенеза и возрастные изменения плодовитости и теплоустойчивости *Drosophila melanogaster* в связи с эффектом гетерозиса // Цитология и генетика. — 1981. — Т. 15. — № 3. — С. 49–53.
6. Страшнюк В. Ю., Воробьева Л. И., Шахbazов В. Г. Вклад гетерозиготности по хромосоме 2 в эффект гетерозиса у *Drosophila melanogaster* // Генетика. — 1985. — Т. 21. — № 11. — С. 1828–1833.
7. Плохинский Н. А. Алгоритмы биометрии. — М.: Изд-во МГУ, 1980. — 150 с.
8. Тоцький В. М. Генетика. — Одеса: Астропrint, 2002. — 709 с.
9. Clark A. G., Gould A. S. Genetic control of adult life span in *D. melanogaster* // Exp. Gerontol. — 1970. — Vol. 5. — № 2. — Р. 157–162.
10. Williams J. A., Bell J. B., Carroll S. B. Control of *Drosophila* wing and halter development by the nuclear vestigial gene product // Gene and Develop. — 1991. — Vol. 5. — № 12 В. — Р. 2481–2495.
11. Хаустова Н. Д., Алишиби Нассер Мухамед, Тоцький В. Н., Блажнова Е. В. Частота рекомбинаций как показатель генного баланса и приспособленности дрозофилы // Вісник Одеського національного університету. — 2003. — Т. 8. — Вип. 1. — Біологія. — С. 86–91.
12. Хаустова Н. Д., Тоцький В. М. Пристосованість мутантів *vg* *Drosophila melanogaster* і генетична структура штучних популяцій, що містять маркерний ген // Вісник Одеського національного університету. — 2004. — Т. 9. — Вип. 5. — Біологія. — С. 153–158.
13. Тоцький В. Н., Хаустова Н. Д., Моргун С. В., Левчук Л. В. Ген-ензимна система алкоголь-дегидрогенази при заміщенні хромосом і других зміненнях генотипа у *Drosophila melanogaster* // Укр. біохим. журн. — Т. 70. — № 5. — С. 42–51.
14. Гершензон С. М. Основы современной генетики. — Киев: Наукова думка, 1983. — 558 с.
15. Кирпиченко Т. В., Страшнюк В. Ю., Воробьева Л. И., Шахbazов В. Г. Влияние генотипа на экспрессивность признака *vestigial* и степень политеинии хромосом *Drosophila melanogaster Meig* // Генетика. — 2002. — Т. 38. — № 12. — С. 1621–1625.
16. Najera C., Menzua S. L. Effect of alcohol and competition levels on viability of eye colour mutants of *Drosophila melanogaster* // Gen., selec., evol. — 1985. — Vol. 17. — № 3. — Р. 331–340.

Н. Д. Хаустова, С. В. Білоконь, В. М. Тоцький, І. В. Сургучова

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра генетики та молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ЕФЕКТИВНІСТЬ РОЗМНОЖЕННЯ ТА КОМПОНЕНТИ ПРИСТОСОВАНОСТІ МУТАНТІВ *VG* I *CN VG* *DROSOPHILA* *MELANOGASTER*

Резюме

Вивчали вплив маркерних мутацій *sp* і *vg* на пристосованість *Drosophila melanogaster*. Встановили негативну дію мутації *vg* на ефективність розмноження мух, що проявляється в поступовій елімінації мутантних гомозигот у штучних

Н. Д. Хаустова, С. В. Белоконь, В. Н. Тоцкий, И. В. Сургучова

популяціях дроздів. Сполучення в генотипі мутантів *vg* маркерної мутації з мутацією *cn* призвело до підвищення пристосованості за основними показниками, крім стійкості до голодування.

Ключові слова: пристосованість, дроздів, популяція, мутації.

N. D. Khaustova, S. V. Belokon, V. N. Totsky, I. V. Surguchova

Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya Str., 2, Odessa, 65026, Ukraine.

**EFFECTIVENESS OF REPRODUCTION AND FITNESS OF MUTANTS
VG AND *CN VG DROSOPHILA MELANOGASTER* COMPONENTS**

Summary

We were studying the role of marker mutation *cn* and *vg* on *Drosophila melanogaster* fitness. It has been established the negative influence of mutation *vg* on the reproduction of flies. The combination of marker mutation *vg* with the mutation of *cn* in genotype caused the increasing of flies fitness (except the resistance to fasting).

Keywords: fitness, *Drosophila*, population, mutation.

ЗООЛОГІЯ



УДК 595. 450

Т. Ф. Крутоголова¹, ст. викл., О. С. Бондаренко², інж.¹ Одеський національний університет, кафедра зоології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна² Одеський філіал Інституту біології південних морів НАН України,
вул. Пушкінська, 37, Одеса, 65011, Україна

КОЛЕМБОЛИ (*COLLEMBOLA*) В МІКРОСТАЦІЯХ ПЛЯЖУ "ДЕЛЬФІН"

Вивчені видовий склад, чисельність, динаміка і вертикальний розподіл колембол в мікростаціях пляжу "Дельфін". Тип мікростації впливає на видовий склад та чисельність колембол. Незалежно від мікростації максимальна чисельність колембол спостерігалася восени. В мікростаціях піску колемболи знаходилися переважно на глибині 6–11 см., в мікростації "грунт" — на глибині 0–5 см.

Ключові слова: колемболи, таксономія, чисельність, пісок, водорості, ґрунт.

Піщаний пляж є своєрідним екотоном, на який впливають, з одного боку — море, а з іншого — суши, про що свідчить наявність в ньому представників як морської, так і ґрунтової фауни, серед яких є специфічні види, властиві лише даному біотопу [1]. Колемболи — одні з представників мешканців ґрунту, що пристосувалися до специфічних умов біотопу піску і відіграють важливу роль в процесах розкладу органічних речовин. Останнє має істотне значення для очищення прибережної смуги. Своєрідний комплекс організмів формується в викинутих на берег водоростях, що являють собою короткочасний біоценоз, якому властива швидка зміна одних систематичних груп на інші [2]. На сьогоднішній день представники ґрунту в біотопах прибережної лінії північно-західного Причорномор'я мало вивчені, а спеціальні дослідження колембол не проводилися. Тому метою роботи було встановлення видового складу колембол та їх розподіл в різних мікростаціях піску, в викинутих водоростях та порівняння цих показників з показниками ґрунту, що прилягає безпосередньо до пляжу і являє собою для колембол природне середовище мешкання.

Матеріал та методи дослідження

Матеріал зібрано на пляжі "Дельфін" м. Одеси, якому властивий середньо-зернистий тип піску. Облік *Collembola* проводили в червні, липні, жовтні, листопаді 2001 року та лютому – березні 2002 року. Проби відбирали в мікростаціях "ґрунт", "пісок з початку пляжу", "пісок середини пляжу", "пісок біля урізу води", "напівсухі водоростей викиди", "сухі водоростей викиди". Зразки ґрунту та піску відбирали на глибині 0–5, 6–10 та 11–15 см металевою рамкою об'ємом

125 см³, проби водоростевих викидів — об'ємом 0,5 л у трьохкратній повторності. Всього було відібрано 138 проб, з них екстраговано 572 особини.

Вилучення колембол з проб та переведення їх на постійні препарати проводили за загальноприйнятими методиками [3, 4]. Видовий склад колембол встановлювали за визначниками [5, 6]. Статистичну обробку матеріалу провадили за П. Ф. Рокицьким [7]. Для оцінки значення окремих видів колембол в дослідженіх мікростаціях визначали коефіцієнти їх домінування та стрівальності за В. М. Беклемішевим [8], належність колембол до життєвих форм — за С. К. Стебаєвою [9], коефіцієнти фауністичної спільноти — за формулою Сенрена [3].

Результати та обговорення

За період дослідження на пляжі "Дельфін" зареєстровано 40 видів колембол з семи родин. Основу фауни колембол пляжу склали представники родини Isotomidae — 14 видів. Максимальна кількість видів (29) виявлена в мікростації ґрунту, мінімальна — в мікростації "напівсухі водорости" (три види). Досліджені мікростації пляжу не тільки відрізнялися кількістю видів, але й набором домінантних, потенційно домінантних та рідкісних видів (табл. 1).

Із 29 видів колембол, зареєстрованих у ґрунті, тільки сім виявилися домінантними. Коефіцієнт їх домінування варіював в межах 5,3 % (*Isotoma olivacea*) — 20,6 % (*Onychiurus armatus*). Шість видів за частотою стрівальності віднесено до частих, 16 — до рідкісних. Із зареєстрованих тільки у ґрунті видів колембол *Sinella curviseta* віднесене до домінантних (табл. 1).

За частотою стрівальності в зразках ґрунту *O. armatus* виявився постійним видом, *Isotoma notabilis*, *S. curviseta* — доповнювальними. Інші види тут були випадковими (табл. 1).

На початку пляжу зареєстровано 10 видів колембол, з яких вісім віднесено до ряду домінантних. Найвищий коефіцієнт домінування мав вид *Onychiurus carpaticus*, найменший — *O. octopunctatus*. *Ballistura sp.* віднесено до ряду частих, *Isotoma minor* — до ряду рідкісних. При цьому *Ballistura sp.* і *O. octopunctatus* були відсутні в зразках інших мікростацій (табл. 1).

В піску середини пляжу зареєстровано 11 видів колембол: п'ять видів виявилися домінантними, п'ять — частими, один — віднесено до ряду рідкісних. Всі види, зареєстровані в цій мікростації, дуже рідко зустрічалися у зразках, їх коефіцієнти стрівальності коливалися від 3,1 до 14,8 % (табл. 1).

Пісок біля урізу води характеризувався найменшим видовим складом. Всі шість видів були домінантними, проте зустрічалися в одному — трьох зразках піску, що дало можливість їх охарактеризувати як випадкові (табл. 1).

В сухих водоростях зареєстровано 11 видів колембол, з них 10 виявилися домінантними, один — частим. Тут також спостерігалася рідка стрівальність всіх видів. Тільки в цій мікростації виявлено

Колемболи (Collembola) в мікростаціях пляжу "Дельфін"

Xenylla humicola, *Choreutinula intermis*, *Schaettella ununguiulata* і *Hypogastrura assimilis* (табл. 1).

В напівсухих водоростях зареєстровано *I. minor*, *I. olivacea*, *E. lanuginosa*. Всі вони були домінантні, але по стрівальності, як і в попередніх двох мікростаціях, виявилися випадковими видами (табл. 1).

Тільки два види — *I. minor* і *I. olivacea* — знайдено в усіх мікростаціях пляжу, перший з них був домінантним в усіх мікростаціях, другий — тільки в піску середини пляжу, біля урізу води та в напівсухих водоростях. При цьому в останній мікростації його коефіцієнт домінування сягав 50 % загальної кількості колембол (табл. 1).

Попарне порівняння видового складу колембол мікростацій пляжу виявило їх низьку фауністичну спільність: коефіцієнт Серенсена варіював від 13,6 % ("ґрунт" — "уріз води") до 54,5 % ("початок пляжу" — "пісок середини пляжу").

Колемболи, зареєстровані в мікростаціях пляжу, представлені дев'ятьма життєвими формами. Більше всього життєвих форм виявлено в мікростації ґрунту (сім), з яких домінували верхньогрунтові, верхньопідстилкові та атмобіонтні (відповідно 22,4, 21,1, 16,4 % від загальної чисельності зареєстрованих особин). На початку та в середині пляжу зареєстровано по п'ять життєвих форм, тут домінували верхньогрунтові, верхньопідстилкові, а на початку пляжу ще й глибокогрунтові види. В мікростаціях "уріз води" і "сухі водорости" зареєстровано по чотири життєві форми, з них тільки верхньопідстилкові та верхньогрунтові виявлено в обох мікростаціях. Колемболи в напівсухих водоростях були представлені лише трьома життєвими формами, з яких верхньогрунтові склали 50 % від загальної кількості особин, значну частку склали і верхньопідстилкові (38,8 %).

Виявлено, що чисельність колембол в дослідженіх мікростаціях пляжу не однакова, найбільша чисельність зареєстрована у ґрунті, найменша — біля урізу води. Як правило, різниця в чисельності колембол, за винятком мікростації "початок пляжу" — "уріз води", була достовірною. Крім того, виявлену чисельність колембол на початку пляжу не можна вважати дійсною через те, що кількість їх в окремих зразках дуже коливалася. З цієї причини коефіцієнт Стьюдента виявився низьким при порівнянні чисельності цих мікростацій.

Таким чином, три мікростації піску пляжу різко відрізняються від мікростації ґрунту: всі вони характеризуються не тільки низькими значеннями чисельності колембол, а й кількістю їх видів, що в цілому властиво примітивним ґрунтам. В той же час наявність 5–10 домінантних видів в піску не властиве первинним біотопам. Ряд авторів [10, 11] і, в першу чергу, Н. М. Чернова [12] вважають, що для таких біотопів характерне різке домінування 1–3 видів над іншими видами колембол. Це спостерігалася в своїх дослідах і Т. Ф. Крутоголова [13], яка вивчала колембол в пирійно-тонконоговій асоціації Причорноморських схилів.

Аналіз сезонної динаміки колембол показав, що криві сезонних змін чисельності в усіх мікростаціях мають один пік восени і мінімум навесні (уріз води, сухі водорости), або влітку (ґрунт, початок пляжу, середина пляжу, напівсухі водорости) (рис. 1).

Видовий склад колембол в дослідженнях

№	Таксони	Життєві форми	Грунт			Початок пляжу		
			Екз.	D _f , %	C _f , %	Екз.	D _f , %	C _f , %
I	Onychiuridae							
1	<i>Onychiurus absolori</i> Börn.	III б	3	0,9	3,1	-	-	-
2	<i>O. armatus</i> Tullb.	III а	67	20,6	62,9	16	11,9	14,8
3	<i>O. carpathicus</i> Stach.	III а	2	0,6	3,1	32	23,6	11,1
4	<i>O. octopunctatus</i> Tullb.	III а	-	-	-	7	5,2	3,1
5	<i>Metaphorura affinis</i> Tullb.	III б	4	1,2	7	-	-	-
6	<i>Mesaphorura krausbaueri</i> Börn.	III б	20	6,1	22,2	22	16,3	22,1
II	Hipogastruridae							
7	<i>Willemia anophthalma</i> Börn.	III б	-	-	-	-	-	-
8	<i>Xerylla humicola</i> Tullb.	I г	-	-	-	-	-	-
9	<i>Choreutinula intermis</i> Tullb.	II а	1	0,3	3,1	-	-	-
10	<i>Schaettella ununguiculata</i> Tullb.	I б	-	-	-	-	-	-
11	<i>Ceratophisella sigillata</i> Tullb.	I б	-	-	-	-	-	-
12	<i>Hypogastrura assimilis</i> Krausb.	I б	-	-	-	-	-	-
13	<i>H. manubrialis</i> Tullb.	I б	-	-	-	-	-	-
III	Isotomidae							
14	<i>Anuroporus</i> sp.	I г	-	-	-	-	-	-
15	<i>Anuroporus laricis</i> Nic.	I б	-	-	-	-	-	-
16	<i>Pseudomurophorus</i> sp.	III а	3	0,9	7	-	-	-
17	<i>Isotomiella minor</i> Schäff.	III а	4	1,2	3,1	1	0,7	3,1
18	<i>Isotomodes productus</i> Axels.	III б	18	5,5	11,1	12	8,9	14,8
19	<i>Isotomina termophilla</i> Axels.	I б	-	-	-	-	-	-
20	<i>Proisotoma decemoculata</i> Stscherb.	I б	13	4,0	3,1	-	-	-
21	<i>Isotoma notabilis</i> Schäff.	II а	44	13,5	40,7	10	7,3	7,0
22	<i>I. viridis</i> Börn.	I б	11	3,4	11,1	-	-	-
23	<i>I. maritima</i> Tullb.	I б	12	3,6	14,8	-	-	-
24	<i>I. olivacea</i> Tullb.	I б	17	5,3	14,8	21	15,5	25,9

Колемболи (Collembola) в мікростаціях пляжу "Дельфін"

Таблиця 1

мікростаціях пляжу "Дельфін"

Середина пляжу			Уріз води			Сухі водорости			Напівсухі водорости		
Екз.	D _f , * %	C _f , ** %	Екз.	D _f , * %	C _f , ** %	Екз.	D _f , * %	C _f , ** %	Екз.	D _f , * %	C _f , ** %
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	11,1	7,0	-	-	-	5	16,1	9,9	-	-	-
14	31,1	14,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	11,1	11,1	4	26,7	14,8	-	-	-	-	-	-
-	-	-	1	6,7	3,1	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	2	6,6	3,8	-	-	-
-	-	-	-	-	-	5	16,1	3,3	-	-	-
-	-	-	-	-	-	2	6,6	6,6	-	-	-
1	2,2	3,1	-	-	-	2	6,6	6,6	-	-	-
-	-	-	-	-	-	2	6,6	3,3	-	-	-
1	2,2	3,1	-	-	-	3	9,6	6,6	-	-	-
-	-	-	2	13,4	3,1	-	-	-	-	-	-
1	2,2	3,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	8,8	11,1	3	20,0	7,0	3	9,6	3,3	9	50,0	3,3
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	2,2	3,1	4	26,7	11,1	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	3	9,6	6,6	-	-	-
1	2,2	3,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

№	Таксони	Життєві форми	Грунт			Початок пляжу		
			Екз.	D _f %	C _f %	Екз.	D _f %	C _f %
25	<i>I. violacea</i> Tullb.	I б	10	3,0	11,1	10	7,3	11,1
26	<i>I. propinqua</i> Tullb.	I б	1	0,3	3,1	-	-	-
27	<i>Ballistura</i> sp.	I в	-	-	-	4	3,2	7,0
IV	Lepidocyrtidae							
28	<i>Pseudosinella immaculata</i> Lie Pett.	II а	1	0,3	3,1	-	-	-
29	<i>P. wahlgreni</i> Börn.	II а	2	0,6	7,0	-	-	-
30	<i>Lepidocyrtus curvicollis</i> Bourl.	I б	1	0,3	3,1	-	-	-
31	<i>L. lanuginosus</i> Gmel.	I б	2	0,6	7,0	-	-	-
V	Entomobryidae							
32	<i>Entomobryoides myrmecophila</i> Reut.	I а	6	1,9	14,8	-	-	-
33	<i>Sinella coeca</i> Schäff.	IV а	5	1,5	7,0	-	-	-
34	<i>S. curviseta</i> Brook.	IV а	27	8,4	29,6	-	-	-
35	<i>Entomobrya muscorum</i> Nic.	I а	3	1,9	7,0	-	-	-
36	<i>E. lanuginosa</i> Nic.	I а	21	6,4	22,2	-	-	-
37	<i>E. multifasciata</i> Tullb.	I а	10	3,0	14,8	-	-	-
VI	Orchesellidae							
38	<i>Orchesella taurica</i> Stach.	I а	12	3,6	3,1	-	-	-
VII	Sminthuridae							
39	<i>Sphaerida pumilis</i> Krausb.	I в	1	0,3	3,1	-	-	-
40	<i>Sminthurinus niger</i> Lubb.	I б	2	0,6	3,1	-	-	-
	Разом: Родин / видів Абсолютна кількість М±м. тис. екз./м ²			7/29 327 10,5±1,05			2/10 136 4,0±1,51***	

Колемболи (Collembola) в мікростаціях пляжу "Дельфін"

Закінчення таблиці 1

Середина пляжу			Уріз води			Сухі водорости			Напівсухі водорости		
Екз.	D _f * %	C _f ** %	Екз.	D _f * %	C _f ** %	Екз.	D _f * %	C _f ** %	Екз.	D _f * %	C _f ** %
10	22,2	14,8	1	6,7	3,1	3	9,6	6,6	7	38,8	6,6
1	2,2	3,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	2,2	3,1	-	-	-	1	3,2	3,3	2	11,2	3,3
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4/11 45 1,3±0,29			3/6 15 0,4±0,08			4/11 31 2,2±0,32			2/3 18 1,2±0,46***		

Примітка: * — коефіцієнт домінування, ** — коефіцієнт стрівальності,
*** — P > 0,05; I а — атмобіонти, I б — верхньопідстилкові,
I в — нейстонні, I г — кортицикольні, II а — нижньо-підстилкові,
II б — підстилково-грунтові, III а — верхньогрунтові, III б — глибокогрунтові.

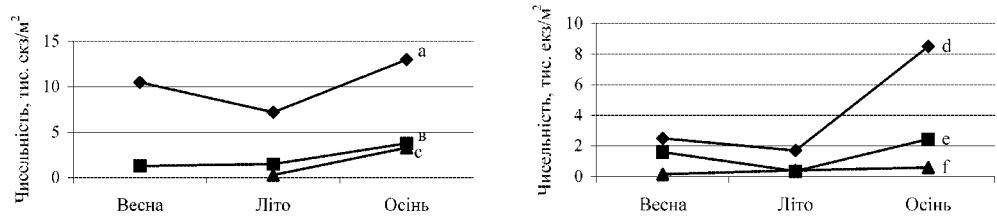


Рис. 1. Динаміка чисельності колембол в мікростаціях пляжу "Дельфін": а — "грунт", в — "сухі водорості", с — "напівсухі водорості", д — "початок пляжу", е — "середина пляжу", ф — "уріз води"

Характер вертикального розподілу колембол в мікростаціях пляжу різний і залежить від типу мікростації та сезону.

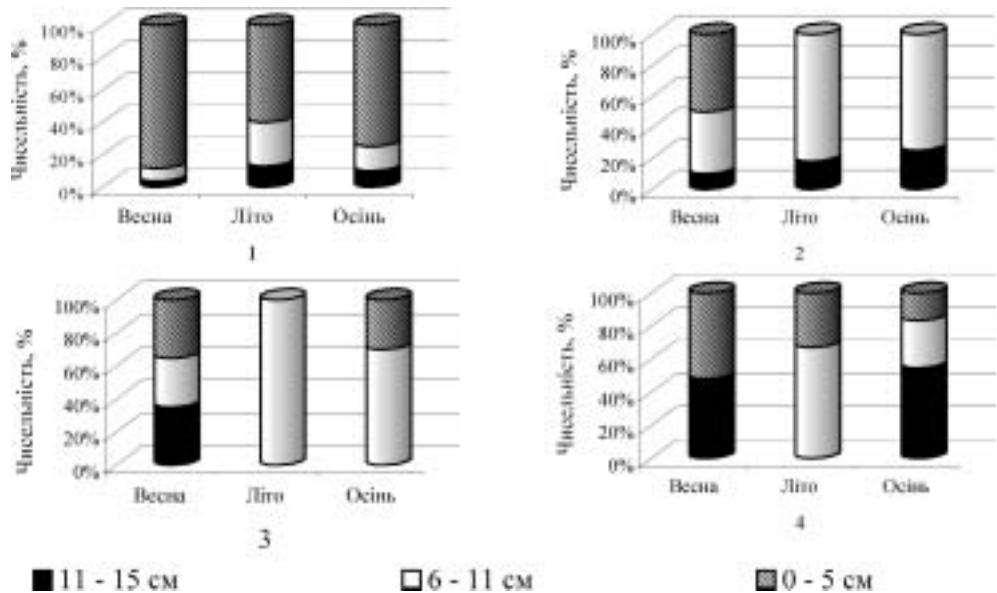


Рис. 2. Вертикальний розподіл колембол пляжу "Дельфін" в мікростаціях "грунт" (1), "початок пляжу" (2), "середина пляжу" (3), "уріз води" (4)

Так, в ґрунті вони віддавали перевагу 0–5 см шару незалежно від сезону, іх мінімум спостерігався в горизонті 11–15 см. На початку пляжу влітку та восени в верхньому шарі піску колембол не виявлено, а максимум їх чисельності зареєстровано на глибині 6–11 см. Навпаки, навесні їх максимальна чисельність зареєстрована в верхньому горизонті піску, проте і на глибині 6–11 см вона залишалася достатньо високою. В середині пляжу влітку та восени колемболи віддавали перевагу горизонту 6–11 см, а навесні їх кількість в усіх горизонтах була майже однаковою. Біля урізу води влітку найбільша кількість колембол зареєстрована в шарі 6–11 см, восени спостерігало-

ся збільшення чисельності від верхнього п'ятисантиметрового горизонту до 11–15 см, навесні на глибині 0–5 та 11–15 см була зареєстрована однакова кількість колембол (рис. 2).

Висновки

1. В мікростаціях пляжу зареєстровано 40 видів колембол з семи родин. Різноманітність видів зменшувалася в ряду ґрунт (29) — середина пляжу (11), сухі водорости (11) — початок пляжу (10) — уріз води (6) — напівсухі водорости (3). Тільки два види — *Isotoma olivacea* та *Isotomiella minor* знайдено в усіх мікростаціях пляжу.

2. Фауністична спільність колембол окремих мікростацій була різною, коефіцієнт варіював від 13,6 % (ґрунт — уріз води) до 54,5 % (початок — середина пляжу).

3. Колемболи представлені дев'ятьма життєвими формами з максимумом у ґрунті (7) і мінімумом — в напівсухих водоростях (3). В усіх мікростаціях переважають верхньопідстилкові, верхньогрунтові і атмобіонтні, а на початку пляжу — і глибокогрунтові види.

4. Чисельність колембол в мікростаціях піску достовірно нижча за таку в ґрунті.

5. В досліджених мікростаціях пляжу характер сезонних змін чисельності колембол ідентичний: максимум — восени, мінімум — навесні або влітку.

6. В ґрунті колемболи знаходилися переважно на глибині 0–5 см в усі пори року. В мікростаціях піску колемболи в залежності від сезону розподілялися по-різному.

Література

1. Вороб'єва Л. В., Зайцев Ю. П., Кулакова И. И. Интерстициальная мейофауна песчаных пляжей Черного моря. — Киев: Наук. думка, 1992. — 144 с.
2. Чернова Н. М. Экологические сукцессии при разложении растительных остатков. — М.: Просвещение, 1977. — 210 с.
3. Гиляров М. С. Учет мелких членистоногих (микрофауны) и нематод // Методы почвенно-зоологических исследований. — М.: Наука, 1975. — С. 30–44.
4. Стриганова Б. Р. Методы фиксации, хранения и лабораторного содержания почвообитающих беспозвоночных // Количествоные методы в почвенной зоологии. — М.: Наука, 1986. — С. 72–109.
5. Мартынова Е. Ф. Отряд Podura (Collembola) — Ногохвостки или Подуры // Определитель насекомых европейской части СССР. — М.; Л.: Наука, 1964. — Т. 1. — С. 42–101.
6. Pallisa A. Die Tierwelt Mitteleuropa. Insecten / I. Teil. Apterigota. — Leipzig: Verlag von Quelle & Meyer, 1962. — Bd. 4. — 286 р.
7. Рокицкий Т. Ф. Биологическая статистика. — Минск: Вышэйшая школа, 1973. — 220 с.
8. Беклемишев В. А. Термины и понятия, необходимые при количественном изучении популяций эктопаразитов и нидиков // Зоологический журнал. — 1961. — Т. 40. — Вып. 2. — С. 149–158.
9. Стебаева С. К. Общая характеристика таксона / Определитель коллембол фауны СССР. — М.: Наука, 1988. — С. 4–5.
10. Бондаренко Е. П. Некоторые особенности микростационального распределения ногохвосток на дне самоспущенных озер Чукотки // Проблемы почвенной зоологии: Мат. V Всесоюз. совещ. — Вильнюс, 1975. — С. 79–81.

11. Сухова Т. И. Население ногохвостками (*Collembola*) примитивных наскальных почв в Красноярском заповеднике Столбы // Проблемы почвенной зоологии: Мат. V Всесоюз. совещ. — Вильнюс, 1975. — С. 301–303.
12. Чернова Н. М. Экология коллембол / Определитель коллембол фауны СССР. — М.: Наука, 1988. — С. 38–52.
13. Крутоголова Т. Ф. Распространение коллембол в почве пырейно-мятликовой ассоциации на Причерноморских склонах // Съезд Украинского энтомолог. общества: Тез. докл. — Киев, 1987. — С. 97–98.

Т. Ф. Крутоголова¹, А. С Бондаренко²

¹ Одесский национальный университет, кафедра зоологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

² Одесский филиал Института биологии южных морей НАН Украины,
ул. Пушкинская, 37, Одесса, 65011, Украина

КОЛЛЕМБОЛЫ (*COLLEMBOLA*) В МИКРОСТАЦИЯХ ПЛЯЖА "ДЕЛЬФИН"

Резюме

Изучены видовой состав, численность, динамика и вертикальное распределение коллембол в микростациях пляжа "Дельфин". Тип микростации влияет на видовой состав и численность коллембол. Независимо от микростации максимальная численность коллембол наблюдалась осенью. В микростациях песка коллемболовы находились преимущественно на глубине 6–11 см., в микростации "почва" — на глубине 0–5 см.

Ключевые слова: коллемболы, таксономия, численность, песок, водоросли, почва.

T. F. Krutogolova¹, A. S. Bondarenko²

¹ Odessa National University, Department of Zoology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

² Odessa Branch, Institute of Biology of the Southern Seas, NAS of Ukraine,
Pushkinskaya St., 37, Odessa, 65011, Ukraine

COLEMBOLA IN MICROSTATIONS OF THE BEACH "DOLPHIN"

Summary

The species composition, quantity, dynamics and vertical distribution of Collembola in microstations of the beach "Dolphin" have been studied. The type of microstation influences on the species composition and quantity of Collembola. In spite of the type of microstation the maximum quantity of Collembola has been revealed in autumn. Collembola preferred the lay about 6–11 sm in the sand microstation, in the soil depth — 0–5 sm.

Keywords: Collembola, taxonomy, quantity, sand, algae, soil.

**МІКРОБІОЛОГІЯ
І ВІРУСОЛОГІЯ**



УДК 579.846.23

Т. В. Васильєва, ст. наук. співроб., канд. біол. наук,
В. О. Іваниця, д-р біол. наук, проф., **Н. Ю. Васильєва**, мол. наук.
співроб., **Н. С. Бобрешова**, ст. наук. співроб.

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

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТІОНОВИХ БАКТЕРІЙ КУЯЛЬНИЦЬКОГО ЛИМАНУ

З води Куяльницького лиману ізольовані два штами сіркоокиснюючих бактерій. Штами охарактеризовані за 51 фенотиповою ознакою. Штами росли при концентрації NaCl від 0,0 до 2,6 М. Як джерело енергії штами використовували неорганічні та органічні сіркоутримуючі сполуки. Tiосульфат окиснювали не до кінця, а з утворенням тетратіонату та сульфіту. Істотною відмінністю від типових штамів була здатність ізольованих штамів без попередньої адаптації переходити від автотрофного до гетеротрофного обміну. Зміст ГЦ-пар основ ДНК 56,8 і 55,7 мол. % для *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13. Згідно отриманим результатам ізольовані штами запропоновано віднести до нового виду бактерій роду *Thiobacillus*, або, згідно з сучасною класифікацією, — до роду *Halothiobacillus*.

Ключові слова: сольові озера, Куяльницький лиман, тінові бактерії, біологічні властивості, мінливість, галотolerантність.

Перше згадування про бактерії, що окиснюють сірководень у Чорному морі та Одеських лиманах, належить Н. Д. Зелінському [4]. Мікробіоту Куяльницького лиману в різні роки вивчали Л. І. Рубенчик, Д. Р. Гойхерман, О. С. Заславський [5–8]. Інтерес різних авторів до тінових бактерій Куяльницького лиману в першу чергу пояснюється їх мінливістю у зв'язку з опрісненням даної водойми. Л. І. Рубенчик і Д. Р. Гойхерам показали, що після тривалого опріснення Куяльницького лиману, сольовий оптимум його тінових бактерій знизився з 11,0–12,0 % до 5,0–6,0 % [6]. О. С. Заславський експериментально підтвердив теоретичне припущення про поступове зниження потреб у сольових навантаженнях тінових бактерій Куяльницького лиману в зв'язку з його опрісненням. З Куяльницького лиману ним були виділені тінові бактерії, що ростуть при концентрації NaCl від 0,7 до 26,0 %; оптимум NaCl для їх розвитку знаходився в межах 5,0–8,0 % [7, 8].

Метою представленої роботи є виділення, вивчення морфологічних, фізіологічних та генетичних властивостей тінових бактерій, ізольованих з Куяльницького лиману.

Об'єкти і методи досліджень

Характеристика біотопу. Куяльницький лиман входить у північну групу лиманів північно-західного Причорномор'я і представляє собою

унікальну водойму з лікувальною гряззю високої якості, формування якої обумовлене діяльністю бактерій, у тому числі і тіонових. Солоність води Куюльницького лиману та діапазон її мінливості не має собі рівних серед усіх інших водойм цього регіону. Однак, у зв'язку з цілим рядом причин, у першу чергу гідрометеорологічних, починаючи з 1931 р. Куюльницький лиман постійно опрісняється. У реально існуючих гідрохімічних умовах Куюльницького лиману, солоність води якого може змінюватися впродовж декількох років на 100,0 та більше проміле, різко змінюються і біотичні характеристики водойми [9, 10].

Виділення чистих культур та умови культивування. Тіонові бактерії зі штамовими номерами КУ-11 і КУ-13 були отримані методом накопичувальної культури на середовищі Натансона. Вихідним матеріалом для їх одержання була вода, відібрана в різних місцях Куюльницького лиману у літній період (солоність води — 280,0 %, температура води ~ 38 °C; pH — 7,2). Накопичувальну культуру інкубували в стаціонарних умовах 5–7 діб при температурі 30–32 °C. Про розвиток тіонових бактерій свідчила поява легкої муті, плівки, що створювали грамнегативні дрібні рухливі чи нерухомі паличикоподібні клітини. На розвиток досліджуваної групи бактерій вказувало також зниження значень pH. Збагачене клітинами середовище висівали на живильні середовища з тіосульфатом. Шляхом послідовних пересівань одержували чисті культури.

Морфологію клітин вивчали за допомогою світлового та електронного мікроскопів у різний термін культивування (24–48 годин і 7–10 днів); визначали форму, рухливість, відношення клітин бактерій до фарбування по Граму. Характер росту на агаризованих середовищах вивчали за допомогою бінокулярної лупи.

Фізіологічні властивості. Вплив температури на ріст ізольованих штамів визначали при їх культивуванні на середовищі Натансона в діапазоні температур від 4 до 50 °C.

З метою виявлення діапазону солоності, що допускає ріст бактерій, у середовище Натансона вводили NaCl у концентрації від 0,0 до 15,0 % (0,0–2,6 M).

Для визначення росту тіонових бактерій за різних значень pH використовували середовища **Бейєрінка** ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$ — 5,0 г; NaHCO_3 — 1,0 г; Na_2HPO_4 — 0,2 г; MgCl_2 — 0,1 г; NH_4Cl — 0,1 г; FeSO_4 — сліди; 1,0 л дистильованої води; pH 9,4); **Баалсруда** ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$ — 5,0 г; NH_4Cl — 0,5 г; MgCl_2 — 0,5 г; KH_2PO_4 — 2,0 г; NaHCO_3 — 1,0 г; KNO_3 — 2,0 г; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,01 г; 1,0 л дистильованої води; pH 7,0), **Натансона** ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$ — 5,0 г; NaCl — 30,0 г; MgCl_2 — 2,0 г; KNO_3 — 1,0 г; Na_2HPO_4 — 2,5 г; pH 6,5–7,0) і **Летена** ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$ — 5,0 г; KH_2PO_4 — 0,1 г; MgSO_4 — 0,5 г; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 0,15 г; KCl — 0,05 г; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ — 0,01 г; 1,0 л дистильованої води; pH 4,0).

Для вивчення впливу органічних речовин на ріст тіонових бактерій до мінерального фону середовища Натансона додавали органічні цукри (глюкоза, сахароза, маноза, мальтоза, фруктоза), спирти (етанол, маніт, інозит), амінокислоти (валін, серін, аспарагін, метіонін, пролін), дріжджовий екстракт у концентраціях 0,03–0,3 %; також використовували МПА та пептон.

З'ясування спектра джерел енергії провадили у присутності неорганічних та органічних сполук сірки.

Приріст біомаси визначали за показником оптичної щільності на спектрофотометрі при $\lambda = 540,0$ нм.

Окиснювання тіосульфату та утворення проміжних продуктів визначали стандартним іодометричним методом [11].

Генетичні ознаки. Виділення, очищення ДНК та визначення в ній вмісту ГЦ-пар провадили загальноприйнятим методом Мармуря [12].

Визначення тіонових бактерій здійснювали, керуючись визначником Бергі та іншими оригінальними роботами [13–15].

Результати та їх обговорення

Характеристика ізольованих штамів наведена у таблиці 1.

Морфологія клітин, характер колоній. *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 — короткі товсті "коковидні", рухливі (*Thiobacillus species* KU-13) і нерухомі (*Thiobacillus species* KU-11) грамнегативні палички. На агаризованих середовищах вони утворюють краплевидні блискучі (*Thiobacillus species* KU-11), чи плоскі прозорі неправильної форми (*Thiobacillus species* KU-13) колонії.

При довготривалому культивуванні форма клітин вивчених бактерій трохи змінювалася: палички збільшувались у розмірах, округлялися, у них появлялися біполярні включення і глобули сірки на поверхні. Треба зазначити, що зміни реєструвалися не тільки на рівні клітин, але й на рівні колоній — вони збільшувались у розмірах та здобували зернисту структуру.

Фізіологічна характеристика. Використовувані джерела енергії. Як джерело енергії усі досліджувані штами використовували технічну сірку, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, $\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$, Na_2S , Na_2SO_4 , K_2SO_4 , KCNS, CaS, ZnS. Вони також добре росли у присутності органічних сіркоутримуючих сполук — $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_2$, $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2$, $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2$. Усі перераховані штами не окислювали FeSO_4 (табл. 1).

Відношення до органічних речовин. На середовищах, що не містять як неорганічне джерело енергії тіосульфат, ріст *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 спостерігали за наявності в середовищі всіх органічних речовин, наведених у розділі "об'екти і методи" (табл. 1).

Thiobacillus species KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 були здатні використовувати кисень нітратів у якості кінцевого акцептора електронів та відновлювати нітрати до нітритів, але не до газоподібного азоту (табл. 1).

Для росту *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 необхідні мінімальні кількості азоту. Оптимальними джерелами азоту для вивчених штамів були амонійні солі — NH_4CL і $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KNO_3 та NaNO_2 пригнічували окиснювання тіосульфату, не впливаючи на ріст бактерій.

Вплив температури та pH. *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 розвивалися за нейтральних, слаболужних та кислих

Таблиця 1

Біологічні властивості тіонових бактерій — типових і ізольованих із води Куяльницького лиману

Морфолого-фізіологічні властивості		Вивчені штами		Типові штами *		
		<i>Thiobacillus species</i> KU-11	<i>Thiobacillus species</i> KU-13	<i>Halo thiobacillus halophilus</i> ATCC 49870	<i>Halo thiobacillus neapolitanus</i> NCIB 8539	<i>Halo thiobacillus hydrothermalis</i> DSM 7121
Морфологія	Форма клітин	Палички короткі товсті, коковидні	Палички короткі товсті, коковидні	Палички короткі товсті, коковидні	Палички короткі тонкі	Палички короткі тонкі
Забарвлення за Грамом		Грам негативні	Грам негативні	Грам негативні	Грам негативні	Грам негативні
Рухливість		Рухливі	Нерухомі	Нерухомі	Рухливі	Нерухомі
Утворення сірки на поверхні клітини		Глобули сірки на поверхні клітини	Глобули сірки на поверхні клітини	Глобули сірки на поверхні клітини	Глобули сірки на поверхні клітини	Глобули сірки на поверхні клітини
Форма колоній		Круглі опуклі блискучі з рівним краєм	Плоскі прозорі з ризоїдним краєм	Круглі опуклі	Круглі опуклі блискучі	Круглі опуклі
Значення pH	Діапазон pH	4,0 – 9,4	4,0 – 9,4	6,5-8,4	4,5-8,5	5,5-9,0
	Оптимальні значення pH	6,5-7,0	6,5-7,0	7,0-7,3	6,5-6,9	7,5-8,0
	Значення pH у кінці досліду	6,0	5,5	5,5-6,0	2,8-3,3	4,5-5,0
Температура, °C	Діапазон температур, °C	4,0 – 47,0	4,0 – 47,0	26,0-36,0	8,0-39,0	11,0-68,0
	Оптимальні значення температур, °C	28,0-32,0	28,0-32,0	30,0-32,0	25,0-30,0	35,0-40,-0

Придодження таблиці I

Морфолого-фізіологічні властивості	Винесені штами		Типові штами *			
	<i>Thiobacillus species</i> KU-11	<i>Thiobacillus species</i> KU-13	<i>Halo thiobacillus halophilus</i> ATCC 49870	<i>Halo thiobacillus neapolitanus</i> NCIB 8539	<i>Halo thiobacillus hydrothermalis</i> DSM 7121	
Джерела енергії	S ⁺²	+	+	-	+	+
	Na ₂ S ₂ O ₃	+	+	+	+	+
	C ₂ H ₆ O S	+	+	-	-	-
	Na ₂ SO ₄	+	+	-	-	-
	K ₂ SO ₄	+	+	-	-	-
	Na ₂ S	+	+	-	-	-
	KCNS	+	+	-	-	-
	CaS	+	+	-	-	-
	ZnS	+	+	-	-	-
	C ₁₄ H ₃ N ₃ O ₂ S ₂	+	+	-	-	-
Окиснення	Fe ₂ SO ₄	-	-	-	-	-
	C ₁₇ H ₁₇ N ₃ O ₂ S ₂	+	+	-	-	-
	C ₁₈ H ₂₀ N ₃ O ₂ S ₁₂	+	+	-	-	-
	Na ₂ S ₂ O ₃ , %	55,5	70,0	-	-	-
Проміжні продукти	Тетрагіонат	+	+	-	-	-
	Сульфіт	+	+	-	-	-
	Сульфат	+	+	+	+	+
Органічні речовини	0,03 - 0,3 %					
Цукри	Глукоза	+	+	-	-	-
	Маноза	+	+	-	-	-
	Мальтоза	+	+	-	-	-
	Сахароза	-	-	-	-	-
	Фруктоза	-	-	-	-	-

Закінчення таблиці 1

Морфолого-фізіологічні властивості	Вивчені штами		Типові штами *		
	<i>Thiobacillus species KU-11</i>	<i>Thiobacillus species KU-13</i>	<i>Halo thiobacillus halophilus ATCC 49870</i>	<i>Halo thiobacillus neapolitanus NCIB 8539</i>	<i>Halo thiobacillus hydrothermalis DSM 7121</i>
Аміно кислоти	Серін	+	+	-	-
	Валін	+	+	-	-
	Аспарагін	+	+	-	-
	Метіонін	+	+	-	-
	Пролін	+	+	-	-
Спирти	Інозіт	+	+	-	-
	Маніт,	+	+	-	-
	Етанол	+	+	-	-
Дріжджевий екстракт		+	+	-	-
МПА		+	+	-	-
Пептон		+	+	+	+
Джерела азоту	NH ₄ CL	+	+	+	+
	(NH ₄) ₂ SO ₄	+	+	+	+
	KNO ₃	+	+	+	+
	NaNO ₃	+	+		
Нітратне дихання	До NO ₂	+	+	+	+
	До N ⁺⁺	-	-	-	-
Стійкість до NaCl, %		0,0 -15,0	0,0 - 15,0	0,0-4,0 M	3,0 %
Вміст ГЦ-пар,%		56,8	55,7	64,2	52,0-57,0
					67,1-67,4

Примітки: * — облігатні автотрофи; "+" — є ріст; "-" — немає росту.

значень pH. Згідно з отриманими результатами оптимальним середовищем для росту *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 було високомінералізоване середовище Натансона (табл. 2).

Таблиця 2
Приріст біомаси (%) тіонових бактерій на середовищах з різними значеннями pH

Досліджувані штами	Середовища, pH			
	Бейсрінка, pH 9,4	Баалсруда, pH 7,0	Натансона, pH 7,0	Летена, pH 4,0
<i>Thiobacillus species</i> KU-11	150,0	100,0	200,0	150,0
<i>Thiobacillus species</i> KU-13	130,0	140,0	230,0	100,0

Ріст вивчених бактерій був можливий в інтервалі температур від 4 до 47 °C (табл. 1). Як і всі помірні мезофіли, штами повільно росли при температурі 4–15 °C. Гарний ріст реєстрували в інтервалі температур від 15 до 37 °C з оптимальними значеннями 28–32 °C. Ріст *Thiobacillus species* KU-13 і *Thiobacillus species* KU-11 припинявся лише за температури 50 °C.

Окиснювання тіосульфату. Криві автотрофного росту та окиснювання тіосульфату *Thiobacillus species* KU-13 протягом 17 діб представліні на рис. 1.

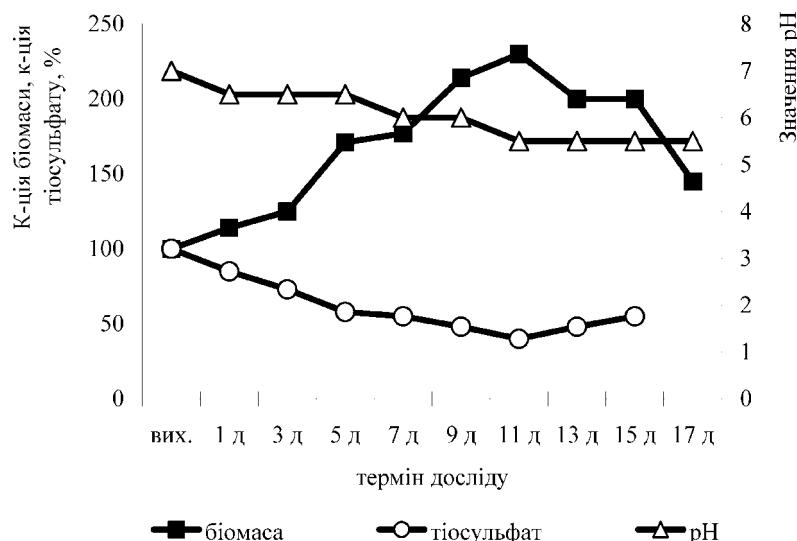


Рис. 1. Ріст, окиснювання тіосульфату та зниження значень pH *Thiobacillus species* KU-13

Окиснювання тіосульфату починалося відразу та продовжувалося протягом усього періоду активного росту бактерій. У кінці експерименту, після зникнення 70,0 % тіосульфату в культуральному середо-

вищі, були виявлені сульфіт, сульфат і тетратіонат. Кінцеві значення pH — 5,5; це трохи вище, ніж у типових штамів, що очевидно, пов'язано з накопиченням сульфіту і тетратіонату.

Аналіз ДНК бактерій. Зміст ГЦ-пар у складі ДНК *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 — 56,8 і 55,7 мол. % відповідно. Необхідно зазначити, що величина вмісту ГЦ-пар у ДНК бактерій, вирощених у автотрофних та гетеротрофних умовах, не змінювалася, що підтверджує чистоту культури. Виявлені відмінності вмісту ГЦ-пар знаходяться у межах, допустимих геносистематикою бактерій для міжвидових розбіжностей. Отримані результати відповідають даним літератури, наведеним для бактерій роду *Thiobacillus* і, таким чином, підтверджують належність виділених штамів до цього роду, або, згідно з сучасними даними Kelly D. P., Wood A. P., — до представників роду *Halothiobacillus* [15].

Таким чином, приступаючи до вивчення тіонових бактерій Куяльницького лиману, необхідно було враховувати відсутність раніше виділених культур та орієнтуватися тільки на їхній опис О. С. Заславським. Крім того, потрібно було враховувати зміни природного стану лиману і, як наслідок, мінливість мікробіоти цієї водойми.

Проведені дослідження показали, що за морфологічними та фізіологічними ознаками штами *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 близькі до бактерій роду *Thiobacillus*, тобто є помірно-термофільними галотolerантними грамнегативними паличками, які використовують у якості джерел енергії різні сполуки сірки. Як і форми, описані О. С. Заславським, ізольовані штами були здатні до росту у присутності органічних речовин. "Сольолюбиві тіоновокислі бактерії" О. С. Заславського росли у діапазоні концентрацій NaCl від 0,25 до 26,0% [7, 8]. Діапазон солоності, за якого реєстрували ріст *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 був більш вузьким — 0,0–15,0 %.

Таким чином, не викликає сумніву, що отримані нами культури подібні тіоновим бактеріям, які описав О. С. Заславський, але, в зв'язку з опрісненням лиману, зменшився діапазон їх галотolerантності.

Ізольовані та досліджені штами тіонових бактерій зберігаються в колекції кафедри мікробіології і вірусології, що є філією Національної колекції мікроорганізмів України.

Висновки

1. Фенотипова характеристика ізольованих штамів у межах досліджуваних тестів близька до *Halothiobacillus neapolitanus* NCIB 8539, *Halothiobacillus halophilus* ATCC 49870 і *Halothiobacillus hydrothermalis* DSM 7121.

2. Основною відмінністю від типових та відомих штамів є здатність описаних штамів до переходу без попередньої адаптації від автотрофного до міксо- і гетеротрофного обміну.

3. *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 окиснюють більш широкий спектр сполук сірки у порівнянні з описаними типовими штамами.

4. *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 схожі за основними фізіологічними ознаками; вони відрізняються морфологією та швидкістю росту на середовищах різного мінерального складу та різних значень pH.

5. Виходячи з виявлених фенотипових властивостей, цілком допустимо виділити *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 в самостійні види роду *Thiobacillus*, або, спираючись на теперішні дані D. P. Kelly і A. P. Wood, — до представників роду *Halothiobacillus*.

Література

1. Исаченко Б. Л. Микробиологические исследования над грязевыми озерами // Труды Геол. Комитета. — Новая серия. — 1927. — Вып. 143. — С. 109–113.
2. Иванов М. В. Роль микроорганизмов в образовании отложений серы в сероводородных источниках Сергиевских минеральных вод // Микробиология. — 1957. — Т. 26. — Вып. 3. — С. 75–78.
3. Вайнштейн М. Б. Распространение тионовых бактерий в озерах // Микробиологические и химические процессы деструкции органического вещества в водоемах. — Л.: Наука, 1979. — С. 115–127.
4. Зелинский Н. Д., Брусиловский Е. М. О сероводородном брожении в Черном море и Одесских лиманах // Южно-русская мед. газета. — 1893. — № 18–19.
5. Рубенчик Л. И. Микроорганизмы и микробиальные процессы в соляных водоемах УССР. — К.:Изд-во АН УССР, 1947. — 79 с.
6. Рубенчик Л. И., Гойхерман Д. Р. К микробиологии биоанизотропных соленых водоемов // Микробиология. — 1939. — Т. 8. — Вып. 5. — С. 83–85.
7. Заславский А. С. Об облигатно-галофильной бактерии лиманской грязи // Укр. Бальнеол. сб. — 1927. — Т. 2–3. — С. 74–85.
8. Заславский А. С. О солелюбивых тионовокислых бактериях соляных водоемов // Микробиология. — 1952. — Т. 21. — Вып. 1. — С. 31–35.
9. Лиманно-устевые комплексы (ЛУК) Причерноморья: географические основы хозяйственного освоения. — Л.: Наука, 1988. — 304 с.
10. Розенгрум М. Ш. Гидрология и перспективы реконструкции природных ресурсов Одесских лиманов. — Киев: Наукова думка, 1974. — 224 с.
11. Унифицированные методы анализа вод / под общей ред. Ю. Ю. Лурье. — М.: Изд-во "Химия", 1971. — С. 177–202.
12. Martur J. A procedure for isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms // J. Mol. Biol. — 1961. — 3. — P. 208–218.
13. Берги. Определитель бактерий: 1 т. / Под ред. Дж. Хоулта. Пер. с англ. — М.: Мир, 1989. — С. 445–460.
14. Заварзин Г. А. Литотрофные микроорганизмы. М.: Наука, 1971. — С. 86–94.
15. Kelly D. P., Wood A. P. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Hallotgiobacillus* gen. nov., *Thermithiobacillus* gen. nov. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. — 2000. — 50. — P. 511–516.

Т. В. Васильева, В. А. Иваница, Н. Ю. Васильева, Н. С. Бобрешова

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

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТИОНОВЫХ БАКТЕРИЙ КУЯЛЬНИЦКОГО ЛИМАНА

Резюме

Из воды Куяльницкого лимана изолированы сероокисляющие бактерии, которые охарактеризованы по 51 фенотипическому признаку. Штаммы росли в диапазоне NaCl от 0,0 до 2,6 М. В качестве источника энергии штаммы использовали различные органические и неорганические соединения серы. Тиосульфат окисляли не до конца, а с образованием тетратионата и сульфита. Существенным отличием описанных штаммов от типовых является их способность без предварительной адаптации переходить от автотрофного к гетеротрофному обмену. Содержание ГЦ-пар в ДНК изученных штаммов составляет 56,8 и 55,7 мол. % для *Thiobacillus species* KU-11 и *Thiobacillus species* KU-13, соответственно. Согласно полученным результатам, изолированные штаммы предложено отнести к новым видам рода *Thiobacillus*, или согласно современной классификации, — к роду *Halothiobacillus*.

Ключевые слова: солевые озера, Куяльницкий лиман, тионовые бактерии, биологические свойства, изменчивость, галотолерантность.

T. V. Vasyljeva, V. O. Ivanitsa, N. Yu. Vasyljeva, N. S. Bobreshova

Odesa National I. I. Mechnikov University,
Department of microbiology and virology
Dvoryanska St., 2, Odessa 65026, Ukraine

THE BIOLGICAL PROPERTIS OF THE SULFUR-OXIDIZING BACTERIA OF THE KUYALNYTSKIY LIMAN

Summary

The sulfur-oxidizing bacteria were isolated from the water of the Kuyalnytskiy Liman and were characterized by 51 phenotypic properties. The cultures grew under NaCl in the range of 0–2.6 M. The cultures used organic and inorganic sulfur compounds' as the energy source. Thiosulfate was oxidized with making tetrathionate and sulphite. The essential distinction of these cultures from typical the ones is their ability to change autotrophic metabolism to mixotrophic and heterotrophic without any preliminary adaptation. The part of GC pairs of DNA of the studied cultures makes out 56.8 and 55.7 % for *Thiobacillus species* KU-11 and *Thiobacillus species* KU-13 correspondingly. These isolated cultures was suggested to relate to new speacies these isolated cultures was suggested to relate to new species of genus *Thiobacillus* or according to modern classification — to genus *Halothiobacillus*.

Keywords: the salty lakes, the Kuyalnytskiy Liman, carbothionic bacteria, biological properties, variability, halotolerance.

ТЕОРЕТИЧНА БІОЛОГІЯ



УДК 577.3

**А. В. Колесников, асист., Л. М. Карпов, д-р біол. наук, проф., зав.
кафедрою**

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра фізіології людини і тварин
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

МЕТОДИ ДЕКОМПОЗИЦІЇ ДЛЯ АНАЛІЗУ ДИНАМІЧНИХ ЯВИЩ У МОДЕЛЯХ БІОСИСТЕМ

Розглядається характер динамічних процесів у моделях біосистем на підставі поділу (декомпозиції) їх на дві складові, одна з яких описує динамічну змінність властивостей біосистем, а друга — процес входження в сталій режим. Показано, що це можливо здійснити такими засобами: виділити потенційну й узагальнено консервативну складову для детермінованого й стохастичного варіantu при малих флуктуаціях, застосувати розбивку на циркуляційну й потенційну складову. Для двох варіантів вдалося вказати можливість послідовної декомпозиції. Обговорюється значення цього підходу для моделювання біосистем. Розглядається гіпотеза роздільного керування, відповідно до якої істотно виявляється структура процесів в цілій біосистемі відповідно до розглянутих правил декомпозиції. Обговорюється можливість застосування цієї гіпотези до моделювання систем вторинних посередників.

Ключові слова: моделювання, біосистеми, декомпозиція, флуктуації, керування.

Однією з характерних рис біологічних систем є поєднання дисипативних властивостей, яким при динамічному розгляді відповідає тенденція входження в сталій режим (стационарний, коливальний та ін.), тісно пов'язаний зі станом гомеостазу, і широка різноманітність станів і режимів для тих ступенів свободи, які із установленням гомеостазу безпосередньо не зв'язані [1]. Поєднання стійкості та динамізму — одна із центральних властивостей біосистем, що завжди привертало увагу дослідників [2].

Математичний опис цього поєднання може бути заснований на методі декомпозиції, що дозволяє розглянути динамічний процес як суму, один доданок якої добре описує дисипативні й гомеостатичні властивості, а другий — мінливість властивостей біосистем у часі. Декомпозиції піддаються як детерміністичні, так і стохастичні моделі біосистем.

У зв'язку із сказаним, метою нашого дослідження є спроба проаналізувати можливості методу декомпозиції для аналізу процесів у біосистемах.

Результати і їх обговорення

Нехай відповідна модель задана п-мірною диференціальною системою виду (1)

$$\frac{dq_i}{dt} = Q_i(q_1, \dots, q_i, \dots, q_n) \quad (1)$$

Більша частина біологічних моделей побудовано так, що теорема існування й єдності рішення задовольняється автоматично. Припустимо, що системі відповідає безперервне разом зі своїми похідними векторне поле. Для декомпозиції скористаємося фактом можливості розкладання такого поля на потенційну $K(q)$ і нелінійну узагальнено-консервативну $R(q)$ складову (2). Подібна схема декомпозиції реалізована в роботах [3,4]. Тут застосовані векторні позначення.

$$Q(q) = K(q) + R(q) \quad (2)$$

Відповідно до визначення, перша являє собою силу (тут аналогія з механікою), розглянуту як антиградієнт деякого потенціалу (3):

$$K = -\operatorname{grad}\Pi(q) \quad (3)$$

Узагальнено-консервативні сили ортогональні потенційним (4)

$$\sum_i \frac{\partial \Pi(q)}{\partial q_i} R_i = 0 \quad (4)$$

З (2) і (3) маємо (5):

$$R_i = Q_i + \frac{\partial \Pi(q)}{\partial q_i} \quad (5)$$

Підставляючи (5) в (4) знаходимо рівняння для потенціалу $\Pi(q)$ (6):

$$\sum_i \frac{\partial \Pi(q)}{\partial q_i} \left(Q_i + \frac{\partial \Pi(q)}{\partial q_i} \right) = 0 \quad (6)$$

Рівняння (6) можна записати так:

$$\sum_i \frac{\partial \Pi(q)}{\partial q_i} Q_i + \left(\frac{\partial \Pi(q)}{\partial q_i} \right)^2 = 0 \quad (7)$$

Якщо (7) вдається вирішити, то вихідні доданки в (2) відновлюються з (3):

$$K(q) = -\operatorname{grad}\Pi(q)$$

$$R(q) = Q(q) - K(q) \quad (8)$$

Розглянемо вивід аналогічного розкладення для стохастичного випадку, узагальнювши [4]. Стохастичний процес може виникнути при побудові математичних моделей біосистем в наступних випадках:

1. У математичній моделі розглядається тільки фіксований рівень організації біологічного об'єкта. Взаємодія з іншими рівнями організації (наприклад, молекулярним) може мати стохастичний характер, що часто розглядається як дифузійний процес.

2. "Горизонтальний" поділ. Вплив частини біосистеми з того самого рівня розглядається як випадковий. Цей спосіб розгляду особливо ефективний у складних системах.

3. Стохастичний процес може імітуватися складними детерміністичними режимами з перемішуванням (хаотичними).

Внаслідок дії однієї з перерахованих вище причин при біологічному моделюванні виникає необхідність розгляду систем виду (9):

$$\begin{aligned} \frac{\partial P(q, t)}{\partial t} = & - \frac{\partial}{\partial q_i} Q_i(q, \varepsilon) P(q, t) + \frac{1}{2} \varepsilon \frac{\partial}{\partial q_i \partial q_j} Q_{ij}(q, \varepsilon) P(q, t) - \\ & - \frac{1}{6} \varepsilon^2 \frac{\partial}{\partial q_i \partial q_j \partial q_k} Q_{ijk}(q, \varepsilon) P(q, t) + \dots \end{aligned} \quad (9)$$

Стаціонарне рішення (9) шукаємо у вигляді (10):

$$W(q) = \exp \left(- \frac{\Phi_0(q)}{\varepsilon} \right) \quad (10)$$

Підставляючи (10) в (9), з огляду на умови стаціонарності й переходячи до детерміністичної межі $\varepsilon \rightarrow 0$, одержуємо (11):

$$\begin{aligned} Q_i(q, 0) \frac{\partial \Phi_0(q)}{\partial q_i} + \frac{1}{2} Q_{ij}(q, 0) \frac{\partial \Phi_0(q)}{\partial q_i} \frac{\partial \Phi_0(q)}{\partial q_j} \\ + \frac{1}{6} Q_{ijk}(q, 0) \frac{\partial \Phi_0(q)}{\partial q_i} \frac{\partial \Phi_0(q)}{\partial q_j} \frac{\partial \Phi_0(q)}{\partial q_k} + K = 0 \end{aligned} \quad (11)$$

Скористаємося тим, що умова стаціонарності рішення (10) не налагає якихось вимог на рух по лініях рівня потенціалу $\Phi_0(q)$, тобто на вектор $R(q)$, що обумовлений співвідношенням (12) (порівн. (4)):

$$R_i(q) \cdot \frac{\partial \Phi_0(q)}{\partial q_i} = 0 \quad (12)$$

З (12) і (11) знаходимо, що $R(q)$ дорівнює (13):

$$R(q) = Q_i(q, 0) + \frac{1}{2} Q_{ij}(q, 0) \frac{\partial \Phi_0(q)}{\partial q_j} + \frac{1}{6} Q_{ijk}(q, 0) \frac{\partial \Phi_0(q)}{\partial q_j} \frac{\partial \Phi_0(q)}{\partial q_k} + K \quad (13)$$

Дрейф може бути визначений тут, як і в детерміністичному варіанті (2). Тоді згідно (2) і (13) одержуємо (14):

$$K(q) = -\frac{1}{2} Q_{ij}(q, 0) \frac{\partial \Phi_0(q)}{\partial q_j} - \frac{1}{6} Q_{ijk}(q, 0) \frac{\partial \Phi_0(q)}{\partial q_j} \frac{\partial \Phi_0(q)}{\partial q_k} - K \quad (14)$$

Істотна відмінність першого детерміністичного варіанту (7,8) від другого стохастичного (13, 14) полягає в наступному:

1. У першому варіанті відбувається поділ рухів на дисипативні й консервативні (точніше, що мають незалежний від часу інтеграл). У стохастичному варіанті в басейні притягання атTRACTорів можливий циркуляційний рух уздовж ліній рівня потенціалу $\Phi_0(q)$. "Падіння" на атTRACTор не здійснюється завдяки впливу стохастичних сил.

2. У другому варіанті стохастичні сили входять як у дрейфову складову (14), так і в консервативну (13). Детермінована складова входить тільки в (13).

Обидва розкладання корисні для побудови біологічних моделей, перше — для опису детермінованого процесу, а друге — для флюктуаційного. Прийняття першої або другої позиції визначаються точкою зору, вибраною при моделюванні. Однією з об'єднуючих рис обох підходів є можливість розгляду (7) і (11) як рівнянь Гамільтон-Якобі для систем, функція Гамільтона яких не залежить від часу. Скористаємося цим і складемо канонічні рівняння. Відповідна функція Гамільтона для системи (7) дорівнює (15):

$$H_{det}(p, q) = \sum_i p_i Q_i(q) + p^2 \quad (15)$$

Для стохастичного варіанту функція Гамільтона буде виглядати складніше (16):

$$H(q, p) = Q_i(q, 0)p_i + \frac{1}{2} Q_{ij}(q, 0)p_i p_j + \frac{1}{6} Q_{ijk}(q, 0)p_i p_j p_k + K \quad (16)$$

Тут p_i — величини, що грають роль імпульсів, які виникають завдяки застосуванню канонічного формалізму за аналогією з механікою. Користуючись цією аналогією, можна виписати й принцип найменшої дії за Гамільтоном. Наприклад, з (15) одержуємо (17):

$$\delta \int_{t_1}^{t_2} (p_i \dot{q}_i - H(p, q)) dt = 0 \quad (17)$$

Стохастичний варіант варіаційного принципу, окрім випадок якого розглянутий в [4], виписується аналогічно.

Ще один тип декомпозиції, надзвичайно важливий з термодинамічної точки зору, розглядається в роботі [5]. Тут для декомпозиції використовується можливість розкладання векторного поля на потенційну $\tilde{K}(q)$ й циркуляційну $\tilde{R}(q)$ складову (18).

$$Q(q) = \tilde{K}(q) + \tilde{R}(q) \quad (18)$$

Перший доданок тут також антиградієнт деякого потенціалу (19):

$$\tilde{K}(q) = -\text{grad}\tilde{\Pi}(q) \quad (19)$$

Циркуляційні сили по визначеню ортогональні радіусу-вектору у фазовому просторі (20)

$$\sum_i \tilde{R}_i q_i \equiv 0 \quad (20)$$

Складемо функцію виду (21):

$$\tilde{H}(q_1, \dots, q_n) = \sum_i q_i Q_i \quad (21)$$

Для потенційної функції $\tilde{\Pi}(q)$ з (4) справедливо лінійне неоднорідне диференційне рівняння в частних похідних (22) [5]:

$$\sum_i q_i \frac{\partial \tilde{\Pi}(q)}{\partial q_i} = -\tilde{H} \quad (22)$$

Рішення (22) зводиться до рішення системи звичайних диференційних рівнянь (23).

$$\frac{dq_i}{q_i} = \frac{d\tilde{H}}{-\tilde{H}}, i = 1Kn \quad (23)$$

Перші $n-1$ рівнянь системи (23) дають (24)

$$q_j = C_j q_n, j = 1Kn-1 \quad (24)$$

З останнього рівняння з (23) з огляду на те, що при $\tilde{H} = 0$ виконується $\tilde{\Pi} = 0$, маємо:

$$\tilde{\Pi} = - \int \frac{\tilde{H}(C_1 q_1, KC_{n-1} q_n, q_n)}{q_n} dq_n \quad (25)$$

Замінюючи C_i іхніми значеннями з (24), знаходимо вираз для потенційної функції. Тоді потенційна частина (19) визначається як (26)

$$\tilde{K}_i = - \frac{\partial \tilde{\Pi}}{\partial q_i} \quad (26)$$

Циркуляційна складова відповідно дорівнює (27)

$$\tilde{R}_i = Q_i + \frac{\partial \tilde{\Pi}}{\partial q_i} \quad (27)$$

Поєднання обох детермінованих методів дозволяє класифікувати динамічні явища й відповідні їм режими, які спостерігаються в експерименті, у такий спосіб. Нехай динамічну модель вдається піддати декомпозиції (2) на потенційну й узагальнено-консервативну складову. Узагальнено-консервативна складова може бути, у свою чергу, розкладена на потенційну другого типу й циркуляційну (18) за допомогою рішення (23). Для векторного поля, що задається системою (1), можливим виявляється наступне подання (28)

$$Q(q) = K(q) + \tilde{K}(q) + \tilde{R}(q) \quad (28)$$

Тут $R(q) = \tilde{K}(q) + \tilde{R}(q)$ — розкладання (18) для узагальнено-консервативних сил, побудоване шляхом рішення для них рівняння (23).

Для з'ясування фізичного змісту розкладу (28) розглянемо приклад фазового портрету нелінійної динамічної системи. На рис. 1 міченю лінією показані фазові траєкторії динамічної системи. Динамічний процес можна розгляднути як суму двох рухів, один з яких має консервативний характер й описується векторним полем $R(q)$ (1, рис. 1), інший (2, рис. 1) здіснюється контраградієнтно потенціалу $\Pi(q)$ по траєкторіях найшвидшого спуску. Йому відповідає векторне поле $K(q)$.

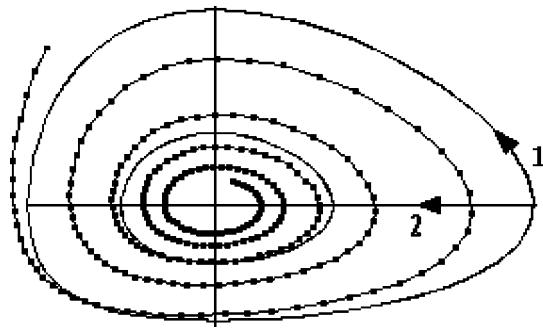


Рис. 1. Схема декомпозиції динамічної системи на градієнтну й узагальнено консервативну. 1 — рух уздовж ліній рівня інтеграла динамічної системи, що відповідає векторному полю $R(q)$, 2 — градієнтне векторне поле $K(q)$. Крапками позначена фазова траєкторія вихідної динамічної системи(1)

Отримане в результаті декомпозиції векторне поле $R(q)$, що має узагальнено-консервативний характер, тобто маюче однозначний інтеграл (для консервативних систем це інтеграл енергії), можна також піддати декомпозиції. За допомогою розкладання (18) воно також розбивається на дві складові (див. (23)), геометричний зміст яких ясний з рис. 2.

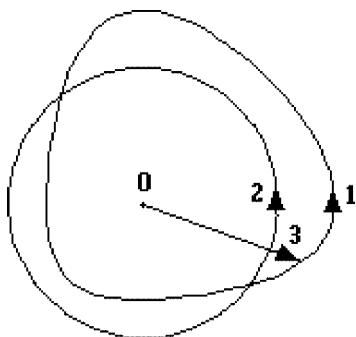


Рис. 2. Схема декомпозиції узагальнено-консервативного векторного поля на градієнтну та циркуляційну складові:

1 — фазова траєкторія узагальнено консервативної динамічної системи,
2 — циркуляційна складова $\tilde{R}(q)$ векторного поля $R(q)$, 3 — градієнтна складова $\tilde{K}(q)$ векторного поля $R(q)$, О — початок координат

Рух у фазовому просторі, заданий у розглянутому випадку узагальнено-консервативним векторним полем, розбивається на циркуляційне, ортогональне радіусу-вектору (2 рис. 2, $\tilde{R}(q)$) і дисипативне, що задається градієнтним векторним полем (1 рис. 2, $\tilde{K}(q)$). Останнім доданком задаються ряд нелінійних властивостей, що часто зустрічаються в біологічних моделях, наприклад періодичне наближення й віддалення фазової траєкторії від стану рівноваги.

Слід зазначити неоднозначність поділів виду (2), (28). Вона пов'язана з нелінійним характером рівняння (7) і характером крайових умов в (2), зв'язаних з природою задачі. Однак для аналізу процесів у біосистемах істотна сама структура поділів (2), (13), (14), (18) і (28). У зв'язку з цим можна висловити гіпотезу, що має безпосереднє відношення до динамічної природи біосистеми, гіпотезу роздільного керування. Для багатьох біосистем характерна дуже висока складність динамічних ефектів відгуку на керуючий вплив і беручих у цьому участь підсистем. При математичному моделюванні відповідних процесів виникають труднощі, пов'язані з можливістю розгляду лише декількох динамічних змінних. Побудова моделей при цьому часто ведеться за допомогою теорем редукції — теореми Тихонова й методу стаціонарних концентрацій [6], теорем усереднення [7], дуже ефективних теорем зведення на центральний многовид [8]. Застосування

всього цього арсеналу засобів не завжди приводить до достатнього спрощення форми математичних моделей. Часто виникає ситуація еквівалентної важливості процесів у різних підсистемах для побудови моделі. Ці й інші труднощі можуть бути обумовлені тим, що істотною є не локалізація різних за природою динамічних процесів у просторово розділених підсистемах або фазах, а їх загальний динамічний характер (нелокальність). Розглянута гіпотеза полягає в наступному твердженні: у ряді випадків дисипативна й консервативна складова знаходиться під впливом різних керуючих факторів і різних по природі керуючих підсистем. Це відповідає рівності (29)

$$Q(u_1, u_2, q) = K(u_1, q) + R(u_2, q) \quad (29)$$

Керуючі параметри системи (1) тут розбиті на дві групи. Перша група u_1 управляє потенційною складовою, що відповідає дисипативним процесам, а друга u_2 — узагальненою консервативною, що визначає форму потенційної поверхні. Можливо також існування трьох груп параметрів керування, що відповідають розбивці (28). Якщо говорити спрощено, то u_1 визначає ступінь зачленення підсистеми в динамічний процес, а u_2 — форму й характер нелінійного динамічного поводження. Розглянемо це на прикладі системи внутрішньоклітинного керування. Відомо, що взаємний вплив нейронів можна приблизно розбити на дві групи. Перша відповідає відносно простим взаємним ефектам, що впливають переважно на іонні провідності. Класичним прикладом цього варіанту взаємодії є вплив через Н-холінергічний синапс, що є керованим іонним каналом. До цієї ж групи варто віднести багато типів глутамат- і ГАМК-ергічних (ГАМКа) синаптичних взаємодій. Впливи подібного роду на клітку часто протікають і закінчуються досить швидко. До іншої категорії належать ефекти, що здійснюються через дві системи вторинних посередників, зв'язаних із цАМФ і інозитолтрифосфатом. На відповідні ім синапси конвергують впливи від багатьох нейромедіаторів, нейропептидів і інших фізіологічно активних сполук. Перша категорія взаємних ефектів добре піддається моделюванню (наприклад, за допомогою формалізму Хочкіна-Хакслі [9]). При модельному описі другої категорії виникають розглянуті вище утруднення, пов'язані з нелокальністю. Як робочу гіпотезу пропонується розглянути можливість поділу керування (29) для розглянутих біохімічних систем другого типу. Для розглянутого варіанту ця гіпотеза означає, що одна із двох систем керує переважно формою нелінійного поводження, а друга — збіжністю до фіксованого динамічного процесу змін, що відбуваються в цілому ряді підсистем (наприклад, у підсистемі, що включає ендоплазматичний ретикулум, тісно пов'язаний з динамічними змінами концентрації кальцію в клітині). Ступінь вірогідності даної гіпотези буде ясна при узагальненні експериментальних результатів і сучасних моделей розглянутих біосистем.

Висновки

Таким чином, методи декомпозиції дозволяють розглянути моделі біологічних систем з точки зору динамічної структури внутрішньої

взаємодії її складових частин. Поділ процесів на складові дозволяє розглянути процеси в біосистемі і, зокрема, у клітині як суперпозицію двох істотно різних видів руху (динамічних змін стану). Підсистеми керування цими рухами можуть функціонувати окремо одна від одної (гіпотеза роздільного керування). Ця можливість повинна розглядатись при аналізі динаміки біосистем. Okрім того, виділення рухів консервативного характеру дуже важливо для аналітичного дослідження моделей біосистем за допомогою асимптотичних методів [10].

Література

1. Колесников А. В. Опис динаміки функціонування нервової клітини з використанням аксіоматичного підходу // Нейрофізиологія. — 1998. — Т. 30, № 4/5. — С. 402–404.
2. Гласс Л., Мэки М. От часов к хаосу — ритмы жизни. — М.: Мир, 1991. — 246 с.
3. Батай Ж., Эделен Д. Г., Кестин Дж. Структура термодинамических потоков: прямое использование дисипативного неравенства // Термодинамика и кинетика биологических процессов, М.: Наука, 1980. — С. 187–197.
4. Грэхем Р. Статистические методы в неравновесной термодинамике // Синергетика. — М.: Мир, 1984. — С. 95–108.
5. Меркин Д. Р. Введение в теорию устойчивости движения. — М.: Наука, 1987. — 304 с.
6. Жаботинский А. М. Концентрационные автоколебания. — М.: Наука, 1974. — 204 с.
7. Боголюбов Н. Н., Митропольский Ю. А. Асимптотические методы в теории нелинейных колебаний. Изд. 3-е — Физматгиз, 1963. — 353 с.
8. Pismen L. M., Rubinstein B. Y. Computer tools for bifurcation analysis: general approach with application to dynamical and distributed systems // International Journal of Bifurcation and Chaos. — 1999. — V. 9, № 6. — P. 983–1008.
9. Плонси Р., Барр Р. Биоелектричество. Количественный подход. — М.: Мир, 1992. — 366 с.
10. Мусеев Н. Н. Асимптотические методы нелинейной механики. — М.: Наука. — 1969. — 379 с.

А. В. Колесников, Л. М. Карпов

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра физиологии человека и животных,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

МЕТОДЫ ДЕКОМПОЗИЦИИ ДЛЯ АНАЛИЗА ДИНАМИЧЕСКИХ ЯВЛЕНИЙ В МОДЕЛЯХ БІОСИСТЕМ

Резюме

Рассматривается возможность представления динамических процессов в моделях биосистем на основании разбиения (декомпозиции) их на две составляющие, одна из которых описывает динамическую изменчивость свойств биосистем, а вторая — процесс входления в установленный режим.

Ключевые слова: моделирование, биосистемы, декомпозиция, флуктуации, управление.

A. V. Kolesnikov, L. M. Karpov

Odessa National I. I. Mechnicov University,
Department of Human and Animal phisiology
Dvoryanskaya, Str., 2, 65026, Ukraine

**DECOMPOSITIONAL APPROACH TO DYNAMICAL PROCESSES
IN THE MODELS OF BIOLOGICAL SYSTEMS**

Summary

The possibility of representation of dynamical processes in the models of biological systems is regarded as an amount of two components. The first component describes the dynamical variability of the properties of biosystems, the second — the approach to the stationary regime.

Keywords: modelling, biosystems, decomposition, fluctuation, control.

**ІСТОРІЯ НАУКИ
ТА УНІВЕРСИТЕТУ**



УДК 579.58.002

С. Г. Коваленко, канд. біол. наук, доц., О. Ю. Бондаренко, асп.

Одесський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра ботаніки
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

СКАРБИ ГЕРБАРІЮ ОДЕСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМ. І. І. МЕЧНИКОВА. ТРАВНИК XVIII СТОРІЧЧЯ

Розглядається видовий склад травника, що включає рукописний текст та фрагменти засушених рослин, який написаний у 1759 році і зберігається у гербарії Одесського національного університету ім. І. І. Мечникова

Ключові слова: гербарій, травник, лікарські рослини, видовий склад.

Гербарій Одесського національного університету отримав статус національного надбання 22 вересня 2004 року. В його колекціях зберігаються збори видатних ботаніків, що вивчали флору регіону — О. Д. Нордманна, Е. Е. Ліндеманна, Я. Я. Вальца, Й. К. Пачоського, П. С. Шестерикова, Г. Й. Потапенка та інших дослідників, представлених гербарні аркуші, що містять види, притаманні різним куточкам Старого і Нового Світу. У гербарії знайшли своє відображення різні відділи рослин — від одно- та багатоклітинних водоростей і лишайників до вищих спорових і насінніх рослин. Але чи не найстарішим є травник, написаний від руки французькою мовою у 1759 році.

Травниками називали праці флористів та лікарів, які описували лікарські рослини. Особливо широко такі праці мали місце у XV—XVI сторіччях — спочатку у Західній Європі, а потім і у Росії. Однак, сучасні дослідники вважають, що найперші травники мають вік близько 3 тисячоліть. З XVI сторіччя опис рослин у них супроводжувався засушеним екземпляром. Як відомо, гербаризацію, тобто зберігання рослин у засушенному вигляді, першим запропонував італійський ботанік Лука Гіні, який склав колекцію засушених рослин для Болонського університету у 1550 році [1, 2].

Метою нашої роботи є аналіз флористичного складу рослин, що представлені у травнику 18 сторіччя, та їх розподілу по групах. Назви таксонів ми наводимо у сучасній номенклатурі і уточнюємо за [3], сучасне використання рослин визначаємо згідно з [4, 5, 6].

Книга має назву "Медичний травник" і представляє собою рукопис, який чергується із засушеними частинами рослин (рис. 1, 2, 3). У ній представлені звичайні рослини, які найчастіше використовувалися в той час у медичній практиці. Вони поділені на 21 клас (розділ) згідно з їх застосуванням.

Як сказано у передмові, у травнику представлені звичайні, широко розповсюджені (в першу чергу — в Середній Європі та Середземномор'ї, *авт.*) рослини, знайомство з якими важливе навіть для тих, хто

не є лікарем. За допомогою цієї книги будь-хто може без консультацій із спеціалістами вибирати собі рослини, необхідні для лікування певних негараздів. "Завдяки цим знанням ті, хто мандрує або знаходиться на військовій службі, зможуть знайти собі полегшення у своїх хворобах" (С. 3).

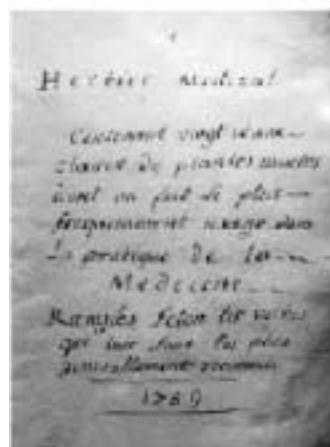


Рис. 1. Перша сторінка гербарію



Рис. 2. Сторінка з частинами рослин



Рис. 3. Меліса лікарська

Автор вказує на те, що рослини — це медикаменти рослинного царства і використовуються у них різні частини: корені, стебла, кора, листя, квітки, плоди та насіння. Їх використовують у вигляді настоїв, екстрактів, декоктів, у розчиненому вигляді або у порошках. Наведено рекомендації щодо приготування різних ліків і особливостей тих частин рослини, які використовуються.

Рослини класифіковані за їх властивостями. Усі вони поділені на три великі групи:

1. Рослини, що вгамовують спрагу (les plantes alterantes);
2. Рослини, що очищують (les plantes evacuantes);
3. Рослини, що діють лише на певний орган (les plantes topiques).

Усього в травнику налічується 295 екземплярів спорових і насінніх рослин. Рослини представлені окремими частинами, інколи просто листками, що значно утруднює їх визначення. Однак, окремі рослини представлені повністю. Так, наприклад, цикута отруйна подана на стадії паростка та у дорослому стані, чорнушка, жовтеці — у молодому та дорослому віці та ін. У деяких випадках прийшлося обмежитися лише родовою назвою. Для двох видів, наведених у травнику, лишилися тільки назви: самі рослини не збереглися.

Таким чином, за систематичним складом рослини травника можна поділити так (табл. 1):

Однодольні представлені 6 родинами, 6 родами та 6 видами, а Дводольні — 55 родинами, 196 родами і 252 видами.

Таблиця 1

Систематичний склад рослин травника

Відділ	Кількість			
	класів	родин	родів	видів
<i>Bryophyta</i> – Мохоподібні	1	1	1	1
<i>Equisetophyta</i> - Хвощеподібні	1	1	1	3
<i>Polypodiophyta</i> – Поліподіофіти	1	2	3	4
<i>Pinophyta</i> – Голонасінні	1	1	2	4
<i>Magnoliophyta</i> – Покритонасінні	2	61	202	258
Усього	6	66	208	270

Найбільшу кількість таксонів мають родини *Asteraceae* (Айстро-ви) — 26 родів, 38 видів; *Lamiaceae* (Глухокропивні) — 21 рід, 26 видів; *Fabaceae* (Бобові) — 22 роди, 25 видів; *Rosaceae* (Розові) — 11 родів, 15 видів; *Scrophulariaceae* (Ранникові) — 7 родів, 11 видів; *Ranunculaceae* (Жовтецеві) — 8 родів, 10 видів; *Brassicaceae* (Капустяні) — 9 родів, 10 видів; *Apiaceae* (Селерові) — 8 родів, 9 видів; *Caryophyllaceae* (Гвоздичні) — 8 родів 8 видів; *Polygonaceae* (Гречкові) — 4 роди, 7 видів; *Solanaceae* (Пасльонові) — 5 родів, 7 видів; *Boraginaceae* (Шорстколисті) — 6 родів, 6 видів; *Malvaceae* (Мальтові) — 3 роди, 6 видів. Одновидових родин — 30, усі інші родини мають 2–3 види.

Першу групу поділено автором травника на 10 розділів:

- 1.1. Рослини цілющи в'яжучі;
- 1.2. Цілющи рослини, що викликають апетит;
- 1.3. Рослини, що освіжають;
- 1.4. Головні та ароматичні рослини;
- 1.5. Серцеві та протиотруйні рослини;
- 1.6. Глистогінні рослини;
- 1.7. Печінкові та селезінкові рослини;
- 1.8. Жарознижуючі рослини;
- 1.9. Рослини, що використовуються проти скорбуту;
- 1.10. Снодійні та болезаспокійливі рослини.

Найбільшою кількістю видів (всього 46) представлено розділ 1.1. Серед них *Plantago major* L. (подорожник великий), *P. lanceolata* L. (п. ланцетолистий), *Achillea millefolium* L. (деревій тисячолистий), *Hypericum perforatum* L. (звіробій звичайний), *Amaranthus retroflexus* L. (щиріця звичайна), *Trifolium arvense* L. (конюшина польова), *Polygonum aviculare* L. (гірчак звичайний) та ін. У теперішній час не всі зазначені види використовуються у медицині саме за ознакою, вказаною у назві розділу. Так, подорожник великий, крім в'яжучого, є протимікробним, протизапальним, відхаркувальним, послаблюючим, стимулюючим апетит і секрецію шлунку засобом. Конюшина польова не використовується у медицині, а щиріця звичайна вважається лише бур'яном.

У розділі 1.2. вказано 11 видів, серед яких п'ять видів роду вероніка, у тому числі *Veronica persica* Poir. (вероніка персидська), а також *Geum urbanum* L. (гравілат міський), *Lysimachia vulgaris* L. (вербозілля звичайне) та ін. Якщо гравілат та вербозілля використовуються і тепер в офіційній та народній медицині і не лише зазначеною у травнику метою, то вероніка сьогодні вважається лише бур'яном.

У розділі 1.3, що складається з 14 видів, заслуговують уваги *Grossularia reclinata* (L.) Mill. (агрус відхилений), *Cerasus vulgaris* Mill. (вишня звичайна), *Campanula rapunculoides* Mill. (дзвоники ріпчастовидні) та інші види.

У розділі 1.4 наведено 18 видів, серед яких 9 видів з родини *Lamiaceae*, у тому числі *Hyssopus officinalis* L. (гісоп лікарський), *Majorana hortensis* Moench. (майоран садовий), *Ocimum basilicum* L. (ласицьки справжні), *Origanum vulgare* L. (материнка звичайна) та ін. Рослини з родини Глухокропивових відрізняються наявністю великої кількості ефірної олії. Так, наприклад, ефірна олія гісопу має запах камфори, але сьогодні ця рослина використовується як протизапальна, протимікробна, спазмолітична, бронхолітична, в'яжуча, відхаркувальна, стимулююча апетит, підвищуюча артеріальний тиск і т. п.

Із 15 видів розділу 1.5 звертають на себе увагу *Allium sativum* L. (часник), *Thlaspi perfoliatum* L. (талабан пронизанолистий), *T. arvense* L. (т. польовий), *Leonurus cardica* L. (собача кропива звичайна) та ін. Із вищезгаданих видів часник та собача кропива широко використовуються у сучасній медицині, талабан польовий — у народній медицині, а т. пронизанолистий вважається просто бур'яном.

Для розділу 1.6, що складається з 5 видів, найвідомішими є *Tanacetum vulgare* L. (пижмо звичайне), *Artemisia absinthium* L. (полин гіркий), *A. dracunculus* L. (п. естрагон) та ін.

З 11 видів розділу 1.7 вкажемо на *Eupatorium cannabinum* L. (сідач конопляний), *Agrimonia eupatoria* L. (парило звичайне), *Humulus lupulus* L. (хміль звичайний) та ін. Із названих рослин сідач зараз вважається отруйною рослиною, хоча використовується як жиро-олійна, фарбувальна, волокниста.

У розділі 1.8. нараховується 6 видів, серед яких *Teucrium chamaedrys* L. (самосил гайовий), *Reseda odorata* L. (резеда запашна), *R. luteola* L. (р. жовтењка), *Centaurea erythraea* Rafn. (золототисячник звичайний) та ін. Усі зазначені рослини з метою, вказаною у травнику, зараз не використовуються

У розділі 1.9. вказано 12 видів, серед яких *Lysimachia nummularia* L. (вербозілля лучне), *Tropaeolum majus* L. (красоля велика), види роду *Rumex* L. (щавель) та ін. Рослини з цього розділу зараз використовуються задля інших цілей, а не для тих, що зазначені у травнику.

Розділ 1.10 нараховує 11 видів, серед яких 5 видів з родини *Solanaceae* (Пасльонові): *Solanum nigrum* L. (паслін чорний), *S. dulcamara* L. (п. солодко-гіркий), *S. tuberosum* L. (картопля), *Lycopersicon esculentum* Mill. (помідор їстівний), *Datura stramonium* L. (дурман звичайний), а також *Glaucium flavum* Crantz. (мачок жовтий) з родини *Papaveraceae* (Макові) та ін. Серед вказаних видів паслін

солодко-гіркий зараз вважається отруйною рослиною, а мачок використовується проти кашлю.

У другу групу входять рослини, що очищують. Вона поділяється на 7 розділів:

- 2.1. Ті, що викликають чихання;
- 2.2. Засоби проти кашлю або грудні;
- 2.3. Послаблюючі;
- 2.4. Збуджуючі апетит та сечогінні;
- 2.5. Заспокійливі;
- 2.6. Вітрогонні;
- 2.7. Потогінні.

До першого розділу входить лише *Nicotiana tabacum* L. (тютюн справжній) — рослина, яка широко відома і зараз, але яку не прийнято нюхати, як раніше.

Розділ 2.2 складається з 12 видів, серед яких *Tussilago farfara* L. (підбіл звичайний), *Papaver rhoeas* L. (мак-самосійка), 5 представників родини *Boraginaceae*, серед яких *Pulmonaria officinalis* L. (медунка лікарська), види роду *Myosotis* L. (незабудка) та ін. Якщо підбіл, або мати-й-мачуха, та медунка і зараз широко використовуються як лікарські, то незабудки навіть народна медицина зараз не вважає такими.

У розділі 2.3. представлено 15 видів, серед яких варто назвати *Sambucus nigra* L. (бузина чорна), *Viburnum opulus* L. (калина звичайна), *Bryonia alba* L. (переступень білий), *Laurocerasus officinalis* L. (лавровиця лікарська), *Convolvulus arvensis* L. (берізка польова), *Nerium oleander* L. (олеандр) та ін. Усі вказані рослини використовуються у сучасній медицині, але з іншими цілями. Для прикладу вкажемо, що калина зараз застосовується як протизапальний, протимікробний, протиатеросклеротичний, спазмолітичний, жовчогінний засіб, а також як засіб для зупинки сильної кровотечі. Рослина має седативну, протисудомну, потогінну, відхаркувальну, сечогінну, легку гіпотензивну та ін. дію.

Розділ 2.4. найбільший у цій групі. Він включає 23 види, серед яких наземо *Spartium junceum* L. (віничник прутовидний), *Ruscus ponticus* Woronow ex Grossh. (рукус pontійський), *Foeniculum vulgare* Mill. (фенхель звичайний), *Arctium minus* (Hill.) Bernh. (лопух малий), *Apium graveolens* L. (селера пахуча), види роду *Fraxinus* L. (ясен) та ін. Якщо фенхель та селера використовуються з цілями, названими у травнику, то рукус сьогодні визначається лише як декоративна рослина. Згідно [6], віничник є лікарською рослиною завдяки наявності алкалоїду спартеїну, а лопух використовується як замінник сассапаріли, яка з 16 ст. експортується у Європу як засіб від ревматизму, лепри та шкірних хвороб.

До розділу 2.5. входять 15 видів. Серед них — *Mentha aquatica* L. (м'ята водяна), *Artemisia vulgaris* L. (полин звичайний), *Ballota nigra* L. (м'яточник чорний), *Matricaria perforata* Merat. (ромашка продірявлена), *Melissa officinalis* L. (меліса лікарська), *Marrubium vulgare* L. (шандра звичайна), *Ruta hortensis* Mill. (рута пахуча) та ін. Ці рослини зараз мають більш широкий спектр використання. До речі, шандра

була широко відома у Європі середньовіччя як лікарська рослина, а зараз використовується при хворобах печінки, нирок, шлунку, а також при отиті та віспі.

У розділі 2.6. — 10 видів, серед яких *Daucus carota* L. (морква дика), *D. sativus* (Hoffm.) Roehl. (м. посівна), *Melilotus officinalis* (L.) Pall. (буркун лікарський), *Anthemis ruthenica* M. Bieb. (роман руський) та ін. Вказані рослини зараз використовуються, але, як правило, з іншими цілями.

Останній розділ цієї групи 2.7. містить 6 видів, серед яких *Buxus sempervirens* L. (самшит вічнозелений), *Filipendula denudata* (J. et C. Presl.) Fritsch. (гадючник оголений), представники роду *Polygala* L. (китятки) з білими і пурпуровими квітами та ін. Зарах з метою посилення потовиділення використовують інші рослини. Вказані вище широкого застосування не мають, а самшит відомий лише як декоративна рослина.

Третя група включає рослини, що діють на певні органи. Вона поділяється на 4 розділи:

- 3.1. Пом'якшуючі;
- 3.2. Протизапальні;
- 3.3. Очищаючі рани і сприяючі їх загоюванню;
- 3.4. Офтальмологічні.

Розділ 3.1. складається з 17 видів. Серед них — *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert (хамоміла лікарська), *Mercurialis annua* L. (переліска однорічна), *M. perennis* L. (п. багаторічна), *Senecio vulgaris* L. (жовтозілля звичайне), *Viola tricolor* L. (фіалка триколірна), *Parietaria officinalis* L. (настінниця лікарська), *Chaenorhinum minus* (L.) Lange (вушкоцвіт малий), *Malva pusilla* Smith. (калачки маленькі) та ін. Два останні види у сучасній медицині не використовуються і з господарської точки зору визначаються як бур'яни.

Розділ 3.2. має 21 вид, серед яких *Fagopyrum esculentum* Moench. (гречка єстівна), *Avena sativa* L. (овес посівний), *Pisum sativum* L. (горох посівний), *Phaseolus vulgare* L. (квасоля звичайна), *Ornithopus sativus* Broth. (середела посівна) та ін. Зазначені рослини вживаються сьогодні переважно як харчові або кормові.

У розділі 3.3. — 19 видів, серед яких *Senecio jacobaea* L. (жовтозілля Якова), *Lapsana communis* L. (празелень звичайна), *Salsola iberica* Sennen et Pau (курай іберійський), *Polygonum persicaria* L. (гірчак почечуйний), *Polygonum hydropiper* L. (гірчак перцевий) та ін. Вказані види зараз використовуються з іншою метою, а жовтозілля та празелень вважаються бур'янами.

З 7 видів розділу 3.4. слід назвати *Xeranthemum annuum* L. (безсмертки однорічні), *Chelidonium majus* L. (чистотіл великий), *Salvia sclarea* L. (шавлія мускатна), види роду *Euphrasia* L. (очанка) та ін. Чистотіл, як і безсмертки, сьогодні у практиці лікування очних хвороб не використовується. Шавлія відома головним чином як джерело ефірної олії, яка має промислове значення, а очанка вживається у народній медицині.

Таким чином, травник, що зберігається у гербарії Одеського національного університету ім. І. І. Мечникова, представляє собою рідкіс-

ний експонат, який має вік близько 250 років. У ньому досить широко представлені лікарські рослини, що широко використовувались у той час у Середній Європі та Середземномор'ї. Тому ці рослини автором травника рекомендовані для вживання згідно наведеного розподілу без консультацій з лікарями. З 295 рослин, представлених у травнику, у гербарії збереглося 293. Всього у травнику наведено 254 види судинних та вищих спорових рослин з 208 родів, 66 родин та 6 класів. Багато видів використовується у сучасній медицині, але є такі, від вживання яких давно відмовилися і які у наш час є просто дико-рослинами або навіть бур'янами.

Література

1. Скворцов А. К. Гербарий. — М.: Наука, 1977. — 199 с.
2. Нечитайлло В. А., Кучерява Л. Ф. Ботаніка. Вищі рослини. — К.: Фітосоціоцентр, 2000. — 432 с.
3. Mosyakin S. L., Fedorovichuk M. M. Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist. — Kiev, 1999. — 345 р.
4. Определитель высших растений Украины. — К.: Фитосоциоцентр, 1999. — 548 с.
5. Виноградова Т. А., Гажев Б. Н., Виноградов В. М., Мартынов В. К. Практическая фитотерапия. Полная энциклопедия. — М.: ОЛМА ПРЕСС; СПб.: Изд. Дом "Нева", "Валерий СПД", 1998. — 640 с.
6. Вульф Е. В., Малеева О. Ф. Мировые ресурсы полезных растений. Справочник. — Л.: Наука, 1969. — 566 с.

С. Г. Коваленко, Е. Ю. Бондаренко

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра ботаники
ул. Дворянская, 2, Одеса, 65026, Україна

СОКРОВИЩА ГЕРБАРИЯ ОДЕССКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТА ИМ. И. И. МЕЧНИКОВА. ТРАВНИК XVIII СТОЛЕТИЯ

Резюме

Рассматривается видовой состав травника, включающего рукописный текст и части высушенных растений, который написан в 1759 году и хранится в гербарии Одесского национального университета им. И. И. Мечникова

Ключевые слова: гербарий, травник, лекарственные растения, видовой состав.

S. G. Kovalenko, O. Y. Bondarenko

Odesa Mechnikov National University,
biological faculty, department of botany
Dvoryanska, 2, Odesa, 65026, Ukraine

**TREASURES OF ODESA' NATIONAL MECHNIKOV UNIVERSITY
HERBARIUM.**

MEDICINAL HERBS' MANUSCRIPT OF XVIII CENTURY

Summary

It is examined the species composition of medicinal herbal manuscript, contained the text and the parts of dried plants. This manuscript was written in 1759 and is retained in herbarium of Odesa National University.

Keywords: herbarium, medicinal herbal manuscript, medicinal plants, species' composition.

РЕЦЕНЗІЇ



I. П. Григорюк, В. І. Ткачов, М. Ф. Михальський, О. І. Серга

БІОЕНЕРГЕТИЧНІ ОСНОВИ СТІЙКОСТІ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ ДО ПОСУХИ

Монографія. — К.: Наук. світ, 2004. — 202 с.

Явища сприймання, використання і розсіювання енергії рослинами давно привертає увагу фізіологів. Детально досліджувались закономірності змін енергетичного обміну рослин під впливом численних факторів, з'ясувались енергетичний баланс та механізми, що обумовлюють енергетичну "ціну" відновлення стаціонарного рівня метаболічних процесів.

В. Н. Жолкевіч справедливо вказує, що останнім часом інтерес до біоенергетичних аспектів стійкості рослин незаслужено знишився. Найчастіше несприятливу дію абіотичних факторів розглядають взагалі без всякого зв'язку з перетворенням енергії.

Випущена видавництвом "Науковий світ" книга "Біоенергетичні основи стійкості озимої пшеници до посухи" містить досить значний експериментальний матеріал щодо біоенергетичних процесів, які обумовлюють рівень стійкості сортів озимої пшеници до посухи.

У першому розділі наводиться аналіз літературних джерел, який свідчить про необхідність узагальнення отриманого авторами експериментального матеріалу стосовно специфіки міжвидових та сортових відмінностей у порушенні енергетичних функцій клітин при дії водного стресора. Автори доводять, що при репродукуванні цілісної картини життєдіяльності і продуктивності рослин у несприятливих умовах дуже важливо об'єднати різні за спрямованістю енергетичні процеси в межах енергетичного балансу цілого організму.

У третьому розділі автори наводять власний експериментальний матеріал, який свідчить про зміни у водному і енергетичному обміні озимих пшениць різних сортів за дії посухи, високої температури та полімерних регуляторів росту. В основу вивчення покладено метод спектрофотометрії, оскільки оптичні властивості відображають активність фотосинтетичного, а також дихального процесів і формування енергетичного балансу. Прикметним є те, що спектри відбиття листків і кінетика надходження тритієвої води досліджуються авторами з урахуванням тривалості дії стресора і, що особливо важливо, у процесі відновлення рослин після зняття стресового впливу. При цьому, як і в наступних розділах, досить детально досліджується вплив біостимулаторів росту. Цей напрям досліджень має практичну цінність. Добре відомо, що біологічні стимулатори росту нерідко виявляються відповідними генетичним особливостям рослин. Автори показали, що полімерні форми цитокініну й ауксину дозволяють значно підвищити адаптивність рослин шляхом перебудови метаболізму за змін навколошнього середовища.

Експериментальний матеріал четвертого розділу стосується енергозабезпечуючих процесів рослин за дії посухи та полімерних стимуляторів росту. Доведено, що сортоспецифічність за ознакою витрат кількості енергії АТФ на процеси адаптації до посухи була значно менш вираженою в порівнянні з відмінностями між загартованими і незагартованими рослинами. Слід зазначити, що саме положення про надзвичайну стабільність енергообміну на рівні виду стало однією з причин втрати інтересу дослідників до цієї проблеми. Саме тому автори висловлюють сміливу тезу про додаткові можливості посухостійкості сортів за рахунок активного функціонування специфічних "стресових програм геному" та швидкого переходу на енергоощадливий режим. Це дуже важливо для подальшого з'ясування механізмів функціонування системи АТФ-АДФ-АМФ в рослинах пшениці при дії абіотичних стресорів.

Результати дослідження реакції пігментного комплексу рослин сортів озимої пшениці на дію посухи та полімерних регуляторів росту наведено у п'ятому розділі. Експериментально доведено, що пігментний комплекс сортів степової зони виявився більш стійким до дії посухи. На жаль, автори не наводять і не обговорюють дані про динаміку вільної та зв'язаної форм хлорофілів, які значно доповнюють теорію адаптації та інформацію про захисну роль каротиноїдів від фотодеструкції хлорофілів.

Рецензована книга являє значний інтерес для фізіологів, біохіміків, агрономіків і селекціонерів. Вона безумовно буде корисною при читанні спецкурсів у вищих навчальних закладах щодо фотосинтезу та водного режиму різних генотипів пшениць.

06.10.2004 р.

А. К. Ляшок, д-р біол. наук

Головний науковий співробітник
відділу стійкості до абіотичних
факторів СГІ-НАЦ НАІС

Селекційно-генетичний інститут —
Національний центр насіннезнавства
та сортовивчення УААН

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ

1. ПРОФІЛЬ ЖУРНАЛУ

1.1. “Вісник Одесського національного університету” (випуск “Біологія”) здійснює такі публікації:

1. Наукові статті.
2. Короткі повідомлення.
3. Матеріали конференцій.
4. Бібліографія.
5. Рецензії.
6. Матеріали з історії науки та університету.

1.2. У певному конкретному випуску один автор має право надруковувати тільки одну самостійну статтю.

1.3. Мова видання — українська (в окремих випадках — російська або англійська).

1.4. До редакції “Вісника...” подається:

1. Відредагований і погоджений з редколегією текст статті, записаної на дискеті у форматі Word 6.0 або Word 97 (розмір аркуша — А4, гарнітура Times New Roman (Сур), кегль 14, відстань між рядками 1,5 інтервали, поля: ліве — 2,5 см, праве — 1,5 см, верхнє — 2 см, нижнє — 2 см), та один екземпляр “роздруківки” з неї.
2. Рекомендація кафедри або наукової установи до друку.
3. Експертний висновок установи про можливість опублікування.
4. Резюме двома додатковими мовами (див. п. 2.7, п. 3.2, 10).
5. Колонтитул.

2. ПІДГОТОВКА СТАТТІ — ОБОВ'ЯЗКОВІ СКЛАДОВІ

Оригінальна стаття має включати:

2.1. Вступ, в якому обговорюють актуальність проблеми, формулюють мету та основні завдання дослідження.

2.2. Матеріали і методи дослідження.

2.3. Результати дослідження.

2.4. Аналіз результатів або їх обговорення (можливе поєднання розділів 2.3 і 2.4).

2.5. Висновки.

2.6. Список літератури.

2.7. Анотація (мовою оригіналу статті) і резюме.

2.8. Ключові слова.

2.9. Колонтитул.

3. ОФОРМЛЕННЯ РУКОПИСУ, ОБСЯГ, ПОСЛІДОВНІСТЬ ТА РОЗТАШУВАННЯ ОБОВ'ЯЗКОВИХ СКЛАДОВИХ СТАТТІ

3.1. Обсяг рукопису наукової статті (з урахуванням малюнків, таблиць і підписів до них, анотацій, резюме, списку літератури) — не більше 8 сторінок друкованого тексту (див. 1.4, 2), оглядів — до 10 сторінок, рецензій — до 3 сторінок, коротких повідомлень — до 2 сторінок.

Рукописи більшого обсягу приймаються до журналу тільки після попереднього узгодження з редактором.

3.2. Послідовність друкування окремих складових наукової статті має бути такою:

1. УДК — в лівому верхньому кутку першого аркуша.
2. Прізвище та ініціали автора (авторів) мовою статті, вченій ступінь та посада (скорочено).
3. Назва наукової установи (в тому числі відділу, кафедри, де виконано працю).
4. Повна поштова адреса (за міжнародним стандартом), телефон та електронна адреса (e-mail) для співпраці з авторами.
5. Назва статті. Вона повинна точно відбивати зміст праці, бути короткою (в межах 9 повнозначних слів), містити ключові слова.
6. Анотація мовою оригіналу друкується перед початком статті з відступом 20 мм від лівого поля.
7. Під анотацією друкуються ключові слова (не більше п'яти).
8. Далі йде текст статті, список літератури.
9. Таблиці та малюнки разом з підписами та необхідними поясненнями до них розміщаються у тексті статті.
10. На окремому аркуші подаються резюме (російською та англійською мовами для україномовних статей; українською та англійською — для російськомовних), оформлені таким чином: прізвище та ініціали автора (авторів), назва наукової установи, повна поштова адреса установи, назва статті, слово “Резюме” (“Summary”), текст резюме, ключові слова.

3.3. Стаття повинна бути підписана автором (авторами).

4. МОВНЕ ОФОРМЛЕННЯ ТЕКСТУ: ТЕРМІНОЛОГІЯ, УМОВНІ СКОРОЧЕННЯ, ПОСИЛАННЯ. ТАБЛИЦІ, СХЕМИ, МАЛЮНКИ

4.1. Автори несуть повну відповідальність за бездоганне мовне оформлення тексту, за правильну українську наукову термінологію (її слід звіряти за фаховими термінологічними словниками).

4.2. Латинські біологічні терміни (назви видів, родів) подаються обов'язково латиницею і курсивом. За першого вживання латинської назви у дужках слід обов'язково подати український відповідник назви.

4.3. Якщо часто повторювані у тексті словосполучення автор вважає за потрібне скоротити, то такі абревіатури за першого вживання наводять у дужках. Наприклад: селекційно-генетичний інститут (далі СГІ).

4.4. Посилання на літературу подаються у тексті статті, обов'язково у квадратних дужках, цифрами. Цифра в дужках позначає номер праці у “Списку літератури”. Назви праць у списку літератури розташовуються у порядку цитування в тексті і оформлюються за правилами ВАК (див. “Бюллетень ВАК України, 1997, № 2, с. 29–31).

4.5. Цифровий матеріал, по можливості, слід зводити у таблиці і не дублювати у тексті. Таблиці повинні бути компактними, мати порядковий номер; графи, колонки мають бути точно визначеними логічно і графічно. Цифровий матеріал таблиць слід обробити статистично. Матеріал таблиць (як і малюнків) повинен бути зрозумілим незалежно від тексту статті.

4.6. Рисунки виконуються у програмах “Діаграма Microsoft Graph”, або “Діаграма Microsoft Excel” та вставляються у текст. Кожна крива на рисунку повинна мати номер, зміст кривих пояснюється у записах під рисунками. Однотипні криві повинні бути виконані в однаковому масштабі на одному рисунку. При об'єднанні декількох рисунків або фотографій в один рисунок рекомендується позначати кожен з них маленькими прописними літерами знизу (рис.). На осіх абсцис і ординат рисунка зазначається лише величина, що вимірюється, і її розмірність в одиницях СІ (% , мм, г і т. п.). Наприклад:

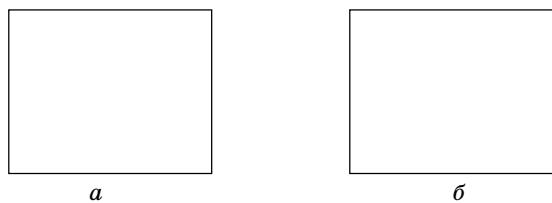


Рис. Підпис рисунку

4.7. У розділі “Результати досліджень” (якщо цей розділ не поєднаний з “Аналізом результатів”, див. 2.4) необхідно викласти лише виявлені ефекти без коментарів — всі коментарі та пояснення подаються в “Аналізі результатів”. При викладі результатів слід уникати повторення змісту таблиць та рисунків, а звертати увагу на найважливіші факти та певні закономірності, що з них випливають. Математичні (хімічні) формули виконуються засобами внутрішнього редактора формул “Microsoft Equal” і, при потребі, нумеруються.

4.8. У розділі “Аналіз результатів” необхідно показати причинно-результативні зв'язки між встановленими ефектами, порівняти отриману інформацію з даними літератури і наголосити на виявленіх нових даних. При аналізі слід посилатися на ілюстративний матеріал статті. Аналіз має закінчуватися відповіддю на питання, поставлені у вступі.

5. АНОТАЦІЯ. РЕЗЮМЕ. КОЛОНТИТУЛИ

Анотація (коротка стиска характеристика змісту праці) подається мовою оригіналу статті, містить не більше 50 повнозначних слів і передує (окремим абзацом) основному тексту статті.

Резюме (короткий висновок з основними положеннями праці) подається російською та англійською мовами, містить не більше 50 повнозначних слів і друкується на окремому аркуші. Якщо стаття написана російською мовою, то резюме подається українською та англійською.

Колонтитул (короткий або скорочений чи видозмінений заголовок статті для друкування зверху на кожній сторінці тексту праці) подається мовою оригіналу статті разом з прізвищем та ініціалами автора на окремому аркуші.

Редколегія має право редагувати текст статей, рисунків та підписів до них, погоджуючи відредагований варіант з автором, а також відхилити рукописи, якщо вони не відповідають вимогам “Вісника ОНУ”. Рукописи статей, що прийняті до публікування, авторам не повертаються.

Odessa National University Herald

•

Вестник Одесского национального университета

•

**ВІСНИК
ОДЕСЬКОГО
НАЦІОНАЛЬНОГО
УНІВЕРСИТЕТУ**

Том 10 • Випуск 5 • 2005

Біологія

Українською та російською мовами

Технічний редактор *Г. О. Куклєва*

Здано у виробництво 03.02.2005. Підписано до друку 12.09.2005.
Формат 70×108/16. Папір офсетний. Гарнітура SchoolBook. Друк офсетний.
Ум. друк. арк. 13,52. Тираж 300 прим. Зам. № 400.

Надруковано у друкарні видавництва “Астропрінт”
(Свідоцтво ДК № 1373 від 28.05.2003 р.)
65026, м. Одеса, вул. Преображенська, 24.
Тел.: 726-98-82, 726-96-82, 37-14-25
www.astroprint.odessa.ua