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 9. Випуск 1
Біологія

2004

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

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

© Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, 2004

Зміст

БІОТЕХНОЛОГІЯ

Шепель Л. С., Ігнатова С. О. Роль окремих факторів в індукційному періоді культури пиляків ячменю 7

БІОХІМІЯ

Андриевский А. М., Кучеров В. А., Тоцкий В. Н. Методические проблемы изучения полиморфизма карбоксиэстераз в онтогенезе *Drosophila melanogaster* 15

Вовчук І. Л., Чернадчук С. С., Блохін Ю. В. Раздражнюк Г. С. Активність карбоксипептидаз у тканинах новоутворень тіла матки 25

Волков О. А., Магла М. Г., Прутянова О. О., Петров С. А. Спектрофотометричний метод визначення тіаміну та його похідних у фармацевтичних препаратах 34

Запорожченко О. В., Карпов Л. М., Коломійчук С. Г., Кокошкіна О. О., Сорокін А. В., Станєв О. І. Вміст лактату і пірувату в органах щурів за умов інгібування біосинтезу білка і введення тваринам полівітамінів 39

Федорко Н. Л., Петров С. А. Взаємодія коферментів 2-оксоглутаратдегідрогенази на рівні мультиензимного комплексу та в мітохондріях печінки 47

БОТАНІКА, ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

Герасимюк В. П. Льодові водорості Одеської затоки Чорного моря 57

Корзюков А. І., Васильєва Т. В., Коваленко С. Г. Острів Зміїний та сучасний стан його флори 65

Паузер О. Б., Бурикіна С. І. Використання комплексону та сірчанокислого цинку в посівах зернових культур 72

Попова О. М. Роль природно-заповідного фонду Одеської області у збереженні судинних рослин Червоної книги України 81

Якуба І. П., Швець Г. А., Феоктистов П. О. Накопичення марганцю листками та зерном твердої й м'якої озимої пшениці у зв'язку з їх біохімічними показниками 88

ГЕНЕТИКА І ЦИТОЛОГІЯ

Гандірук Н. Г., Тоцький В. М., Ланцман І. В. Частота мейотичної рекомбінації на ділянці cn — vg хромосоми 2 *Drosophila melanogaster* за дії ртуті на організм 99

Дерев'янко О. О., Кожухова Н. Е., Бабаянц О. В., Сиволап Ю. М. Молекулярно-генетичний аналіз популяцій *Fusarium spp.* південного регіону України 105

Рижко І. Л., Андрієвський О. М. Життєздатність *Drosophila melanogaster* в умовах дії солей важких металів 113

Січняк О. Л., Мандриченко Т. А., Файт В. І. Ефекти алоплазм на морозостійкість озимої м'якої пшениці після весняного відновлення вегетації 120

Топтіков В. А., Дьяченко Л. Ф., Тоцький В. М., Седлецька Ю. В. Філогенетичні взаємовідношення геномів пшениць за аналізом множинних форм ферментів 126

Трочинська Т. Г., Бланковська Т. П. Морфологія зародкового мішка у другого та третього поколінь пшенично-житніх гібридів 135
Хаустова Н. Д., Тоцкий В. Н., Нассер Мох`д Юсеф Ал-Шибли, Стрельцова Н. А. Частота рекомбинаций и приспособленность дрозофилы при структурных перестройках генотипа 142
Шестопал О. Л., Мехова Е. І., Гочева Е. А. Антиподальний комплекс дворядного ячменю за різних умов вирощування 152

ЕКОЛОГІЯ

Шалімов М. О. Деякі еколого-генетичні проблеми формування екотипів ссавців 161

ЗООЛОГІЯ

Крутоголова Т. Ф., Ярошенко Н. О. Ентомофауна полів люцерни на Півдні України 173
Лобков В. О. Відмінності фізіологічного стану крапчастих ховрашків (*Spermophilus suslicus* Guld.) у різних поселеннях 179
Олейник Ю. Н. Структурная организация и сезонные изменения щитовидной железы самцов крапчатого суслика (*Spermophilus suslicus* Guld.) 185
Русев И. Т., Корзюков А. И., Гержик И. П. Влияние аномальной зимы 2002–2003 гг. На видовой состав и численность зимующих птиц в прибрежной зоне Одесской области 193

МІКРОБІОЛОГІЯ І ВІРУСОЛОГІЯ

Конарева О. П., Іваниця В. О., Гвоздій С. П., Шпортун О. В. Характеристика дріжджеподібної мікробіоти шлунку при різних гастродуоденальних патологіях на фоні хелікобактеріозу 205
Псахис І. Б., Іваниця В. О. Мікробний склад біоплівок установок додаткового очищення питної води 215
Рахімова О. Л., Тоцький В. М., Бабаянц О. В., Іваниця В. О. Вплив екстрактів їстівних грибів на мікроорганізми 221
Фабіянська І. В., Єлинська Н. О. Антагоністична активність лактобацил, виділених із кишечника дітей 227
Царук'янова І. Г., Сорокулова І. Б., Осадча А. І., Єлинська Н. О. Антагоністичні та адгезивні властивості пробіотичних штамів бактерій 234
Юрченко О. О., Бощенко Ю. А., Владико О. С. Перехресна імунореактивність у особливо небезпечних вірусів Ласса, Марбург і Ебола 243
Ямборко Г. В., Маленкова В. І., Петросьянц А. П. Здатність бактерій роду *Lactobacillus* вилучати холестерин із живильного середовища 249

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН

Карпов Л. М., Запорожченко О. В., Будняк О. К., Сорокін А. В. Захисна дія ГАМК-вміщуючих та вітамінних препаратів на рівень флавінових і нікотинамідних коферментів у щурів з підгострою гіпобаричною гіпоксією 259

ІСТОРІЯ НАУКИ ТА УНІВЕРСИТЕТУ

Пашковская Н. М. Забытые имена: Георгий Иосифович Потапенко 269

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ 275

БІОТЕХНОЛОГІЯ

УДК: 581.143. 633-16

Л. С. Шепель, асп., **С. О. Ігнатова**, канд. біол. наук, зав. лаб. культури тканин
Південний біотехнологічний центр у рослинництві УААН,
лабораторія культури тканин
Овідіопольська дорога, 3, Одеса, 65036, Україна
e-mail: worm_master@land.ru

РОЛЬ ОКРЕМИХ ФАКТОРІВ В ІНДУКЦІЙНОМУ ПЕРІОДІ КУЛЬТУРИ ПИЛЯКІВ ЯЧМЕНЮ

Наведено результати вивчення здатності до гаплопродукції сортів і гібридних комбінацій ярого ячменю. Показано залежність індукції ембріогенних пиляків від способу холодової обробки і живильного середовища. Встановлено, що оптимальною обробкою є витримування колосся при температурі + 4°С протягом 28 днів. На живильному середовищі Lorz у всіх генотипів спостерігався більш високий відсоток ембріогенних пиляків.

Ключові слова: *Hordeum vulgare* L., холодова обробка, живильне середовище, ембріогенний пиляк.

В останні роки широко використовуються біотехнологічні методи створення сортів зі стійкістю до біотичних і абіотичних факторів. Одним з можливих шляхів одержання стійкого матеріалу культурного ячменю є його схрещування з дикорастучою формою *Hordeum bulbosum*, стійкою до таких шкідливих захворювань як борошниста роса, бура і жовта іржа [1]. Іншим способом закріплення інформації про ознаку стійкості в генотипі є кумуляція генів шляхом гібридизації стійких сортів з наступним отриманням гомозиготних форм шляхом гаплоїдизації та подвоєнням хромосом і добором кращих генотипів. Гаплоїдизація дає можливість прискорити селекційний процес, що особливо важливо за селекції на імунітет, коли становиться завдання створити генотипи рослин, здатні в процесі розвитку випереджати формоутворюючі процеси в популяції патогена, потенційно здібного переборювати стійкість рослин [2]. Незважаючи на значний інтерес до гаплоїдів, багато важливих питань і проблем андрогенезу продовжують залишатися невирішеними. Досі ще не створена ефективна методика індукції гаплоїдів при культивуванні пиляків будь-яких сортів і гібридів ячменю. Встановлено, що визначальним чинником ефективності культивування пиляків є генотип донорної рослини [3—5]. Крім того, гаплопродукційний процес залежить від сукупності зовнішніх умов, що впливають на його реалізацію.

Вивчення впливу окремих зовнішніх факторів на ефективність індукції ембріогенезу у сортів і гібридів ярого ячменю складає мету даної роботи.

© Л. С. Шепель, С. О. Ігнатова, 2004

Матеріали та методи

Проведено схрещування стійких до борошнистої роси сортів ярого ячменю сучасної селекції Селекційно-генетичного інституту — Чарівний, Казковий, Селеніт — для подальшого одержання гаплоїдів шляхом андрогенезу in vitro. Для цього колосся ізолювали на середньопізній одноядерній стадії розвитку мікроспор. Стерилізацію матеріалу провадили за методикою Lorz [6].

Для визначення оптимальних умов холодової обробки були використані наступні схеми:

1. Утримування стерилізованого колосся у чашці Петрі в краплі води при температурі + 4°С протягом 10 днів;
2. Інкубація стерилізованого колосся у чашці Петрі в краплі води при температурі + 4°С протягом 28 днів;
3. Зберігання стерилізованого колосся у чашці Петрі в краплі води при температурі + 4°С 14 днів з наступним утримуванням у 0,3 М розчині манітолу 7 днів при температурі + 4°С та у воді 7 днів при температурі + 4°С.

Культивування ізольованих пиляків провадили на живильних середовищах Lorz [6] та 190-2 [7] в термостаті при 24—26 °С протягом 21—35 днів.

Результати дослідження та їх аналіз

Результати впливу холодових обробок на здатність до утворення андрогенних структур у сортів і гібридних комбінацій ярого ячменю наведено у таблиці 1.

Таблиця 1

Вплив холодової обробки ізольованого колосся ярого ячменю на вихід ембріогенних пиляків

Гібридна комбінація / сорт	Обробка в чашках Петрі в краплі води					
	10 днів			28 днів		
	Кількість висаджених пиляків	Кількість ембріогенних пиляків	% ембріогенних пиляків	Кількість висаджених пиляків	Кількість ембріогенних пиляків	% ембріогенних пиляків
Казковий х Чарівний	526	174	33,07 ± 2,05	483	186	38,50 ± 2,21
Казковий х Селеніт	619	299	48,30 ± 2,00	977	388	39,71 ± 1,56
Селеніт	397	136	34,25 ± 2,38	434	230	52,99±2,30

Обробка колосся протягом 28 днів була ефективнішою для сорту Селеніт і гібридної комбінації Казковий х Чарівний. Процент ембріогенних пиляків відповідно складав 52,99 та 38,50. Аналогічні дані для сорту Igri отримав Gartner [8]. У випадку комбінації Казковий х Селеніт, навпаки, більший відсоток ембріогенних пиляків отримали після 10 днів холодової обробки.

Не виключено, що такі умови є шоковими для пиляків і стимулюють синхронізацію процесів розвитку мікроспор. За тривалого впливу низькими позитивними температурами цілком можливий добір мікроспор, що запрограмовані на спорофітний шлях розвитку, у той час як інша маса мікроспор деградує.

Вивчення впливу манітолу на ембріогенез показало, що вихід ембріогенних пиляків сорту Чарівний зростав на 15 % (табл. 2). Це узгоджується з раніше отриманими даними Робертсона [9]. Але у сортів Казковий і Селеніт за вказаних умов відбувалося зменшення частини ембріогенних пиляків на 8 і 4,5 % відповідно.

Таблиця 2

Вплив манітолу на вихід ембріогенних пиляків

Сорт	Обробка H_2O 28 днів			Обробка H_2O + манітол 28 днів		
	Кількість висаджених пиляків	Кількість ембріогенних пиляків	% ембріогенних пиляків	Кількість висаджених пиляків	Кількість ембріогенних пиляків	% ембріогенних пиляків
Чарівний	431	121	28,07 ± 2.16	455	198	43.51 ± 2,32
Казковий	436	186	42,66 ±2.36	439	151	34,39 ± 2,26
Селеніт	434	230	52.99 ± 2,30	616	299	48,53 ± 2.01

Таким чином, з'ясувалося, що реакція генотипів на використання манітолу є сортоспецифічною.

Оптимізації складу живильного середовища для культивування пиляків і ізольованих мікроспор було присвячено багато досліджень [6, 10, 11]. Більшість модифікацій живильного середовища стосувалося джерел азоту [12] і вуглецю [13]. Середовище, розроблене Lorz [6], містить у собі найбільш оптимальні концентрації макро- і мікроелементів, а також вітамінів, амінокислот і регуляторів росту, тому використовувалося нами в якості основного. Паралельно для культивування пиляків застосовували середовище 190-2, розроблене для інших злаків.

Проведене на цих середовищах тестування сортів і гібридних комбінацій ячменю на здатність до андрогенезу in vitro показало, що найвищим відсотком індукції калуса у висаджених пиляків відрізня-

вся сорт Селеніт (табл. 3). Відсоток ембріогенних пиляків складав 52,99 %. Для інших генотипів цей показник був нижчим. В окремих випадках у гібридних комбінацій спостерігали 100% індукцію калуса на середовищі Lorz.

Слід зазначити, що на живильному середовищі Lorz у всіх досліджуваних генотипів спостерігали більш високий відсоток індукції калусоподібних структур, ніж на середовищі 190-2.

Таблиця 3

Вплив живильного середовища на вихід ембріогенних пиляків

Гібридна комбінація / сорт	Живильне середовище					
	Lorz			190-2		
	Кількість висаджених пиляків	Кількість ембріогенних пиляків	% ембріогенних пиляків	Кількість висаджених пиляків	Кількість ембріогенних пиляків	% ембріогенних пиляків
Казковий	436	186	42,66±2,36	422	149	35,3±2,32
Чарівний	431	121	28,07±2,16	574	96	16,72±1,55
Селеніт	359	122	52,99±2,30	340	97	28,52±2,44
Казковий х Чарівний	565	131	38,50±2,21	521	152	29,17±1,99
Казковий х Селеніт	695	111	39,10±1,56	813	241	29,64±1,60

Виявлено, що в обох гібридів батьківська форма не впливала на відсоток виходу ембріогенних пиляків. Процент останніх був практично однаковим на середовищі Lorz і на середовищі 190-2. Усі гібридні комбінації відрізнялися більш низьким відсотком індукції новоутворень у порівнянні з вихідною материнською формою і більш високим відсотком у порівнянні з батьківською формою.

За нашими спостереженнями, поява ембріогенного калуса на поверхні пиляка у всіх досліджуваних генотипів відбувалася на 19—27 день культивування. На індукційних середовищах були отримані 2 типи калуса: 1) білий, компактний, структурований калус з чіткими глобулярними утвореннями на поверхні пиляка. Такий тип калуса найчастіше спостерігали на живильному середовищі Lorz; 2) жовтий, щільний, неоднорідний за формою і розміром складових калус був характерним для середовища 190-2. Слід зазначити, що на живильному середовищі Lorz поява калусних глобул на поверхні пиляка відбу-

валася на 5—7 днів раніше, ніж на індукційному середовищі 190-2. Наростання калусної маси також відбувалося швидше на середовищі Lorz. Отримані результати дозволять надалі сконцентрувати увагу на проблемах, пов'язаних з етапом регенерації в культурі пиляків ячменю і знайти підходи до їх вирішення.

Висновки

1. Для реалізації андрогенетичної здатності досліджуваних сортів та гібридів ярого ячменю найбільш оптимальним є витримування колосся 28 днів у краплі води при температурі + 4°С.
2. Живильне середовище Lorz для культивування ізольованих пиляків є більш ефективним у порівнянні з живильним середовищем 190-2.

Література

1. *Snape J. W., Xu Jie.* The resistance of Hordeum bulbosum and its hybrids with Hordeum vulgare to common fungal pathogens // Euphytica. — 1989. — Vol. 41. — P. 273—276.
2. *Choo T. M., Reinbergs E., Kasha K. J.* Use of haploids in breeding barley // Plant Breeding review. — 1985. — Vol. 3. — P. 219—252.
3. *Білинська О. В., Весна С. В.* Застосування методів біотехнології у селекції голозерного ячменю // Тези доповідей VII конференції молодих вчених з проблем фізіології рослин і генетики на рубежі третього тисячоліття" (18—20 жовтня 2000 р., Київ). — К. — 2000. — С. 74.
4. *Білинська О. В.* Генотипові особливості індукції гаплоїдів ячменю (*Hordeum vulgare* L.) методом культури пиляків in vitro: Автореф. дис... канд. біол. наук. 03.00.12/ ХДУ. — Харків, 1997. — 19 с.
5. *Тивари Шарад.* Морфогенез в культуре пыльников и изолированных микроспор ячменя: Автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.12/ Москов. С/х. Акад. им. Тимирязева. — Москва, 1989. — 25 с.
6. *Gartner A., Lorz H.* Anther and microspore culture of barley. Methods in molecular biology. — 1996. — Vol. 111. — P. 269—279.
7. *Pauk J., Mannien O., Matilla J., Salo I.* Androgenesis in hexaploid spring wheat F2 populations and their parents using a multiple step regeneration system // Plant Breed. — 1991. — Vol. 107. — P. 18—27.
8. *Jahne A., Lorz H.* Cereal microspore culture // Plant Sci. — 1995. — Vol. 109. — P. 1—12.
9. *Roberts-Oehlschlager S. L., Dunwell J. M.* Barley anther culture: pretreatment on mannitol stimulates production of microspore-derived embryos // Plant Cell. Tiss. Org. Cult. — 1994. — Vol. 20. — P. 235—240.
10. *Kasha K. J., Simion E., Oro R., Yao Q. A.* An improved in vitro technique for microspore culture of barley // Euphytica. — 2000. — Vol. 120. — P. 319—385.
11. *Knudsen S., Due I. K., Andersen S. B.* Components of response in barley anther culture // Plant Breeding. — 1989. — Vol. 103. — P. 241—246.
12. *Mordhorst A. P., Lorz H.* Embryogenesis and development of isolated barley (*Hordeum vulgare* L.) microspores are influenced by the amount and composition of nitrogen sources in culture media // Plant Physiol. — 1995 — Vol. 142. — P. 484—492.
13. *Hunter C. P.* Plant generation method. European patent application № 87200773.7.

Л. С. Шепель, С. А. Игнатова
Южный биотехнологический центр в растениеводстве УААН,
лаборатория культуры тканей
Овидиопольская дорога, 3, Одесса, 65036, Украина
e-mail: worm_master@land.ru

РОЛЬ ОТДЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ В ИНДУКЦИОННОМ ПЕРИОДЕ КУЛЬТУРЫ ПЫЛЬНИКОВ ЯЧМЕНЯ

Резюме

Изложены результаты изучения способности к гаплопродукции сортов и гибридных комбинаций ярового ячменя. Показана зависимость индукции эмбриогенных пыльников от способа предобработки и питательной среды. Установлено, что оптимальной предобработкой является выдерживание колосьев при температуре +4 °С в течение 28 дней. На питательной среде Lorz у всех генотипов наблюдался более высокий процент эмбриогенных пыльников.

Ключевые слова: Hordeum vulgare, предобработка, питательная среда, эмбриогенный пыльник.

L. S. Shepel, S. A. Ignatova
South Plant Boitechnology Center,
Plant Tissue Laboratory,
Ovidiopolskaya St., 3, Odessa, 65036, Ukraine
e-mail: worm_master@land.ru

THE ROLE OF SOME DEFINITE FACTORS IN THE INDUCTIONAL PERIOD OFBARLEY ANTHER CULTURE

Summary

The results of studying spring barley varieties and hybrids haploproduction ability are presented. The dependence of embryogenic anthers induction from cold pretreatment and culture medium is shown. The most effective pretreatment of spikes was at t + 4 °C during 28 days. The higher number of embryogenic anthers was observed on Lorz nutrient medium.

Keywords: Hordeum vulgare, pretreatment, culture medium, embryogenic anthers.

УДК 577.152.31:591.3/.4/.8:595.773.4

А. М. Андриевский, канд. биол. наук, доц., **В. А. Кучеров**, мл. науч. сотр., **В. Н. Тоцкий**, д-р биол. наук, проф., зав. каф.
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина
e-mail: caphgen_onu@mail.ru

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ ИЗУЧЕНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА КАРБОКСИЭСТЕРАЗ В ОНТОГЕНЕЗЕ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Методом электрофореза в полиакриламидном геле изучено многообразие молекулярных форм карбоксиэстераз у личинок, куколок и имаго дрозофилы. Подобраны и оптимизированы условия экстракции и гистохимического обнаружения исследуемых ферментов. Установлены электрофоретические свойства всех экстрагированных эстераз суммарных тканей плодовой мушки. Показаны онтогенетические изменения в молекулярных спектрах карбоксиэстераз. Высказывается предположение о том, что качественно-количественные изменения в наборах карбоксиэстераз в ходе развития насекомого связаны с онтогенетически зависимой экспрессией соответствующих генов эстераз.

Ключевые слова: гистохимия, эстеразы, онтогенез, дрозофила.

Гидролитические ферменты в живых организмах выполняют многочисленные функции, среди которых немаловажной является обеспечение метаболизма белков, жиров, углеводов, эфиров и их производных [1]. Представители этого класса энзимов могут характеризоваться разными качественно-количественными биохимическими параметрами в зависимости от видовой принадлежности, органно-тканевого распределения, цитологической компартментализации, онтогенетического состояния организма, а также от условий окружающей среды, в которых находится изучаемый объект. Иными словами, реальное состояние той или иной ферментативной системы является адекватным отражением генотипа данного организма в определенное время его развития, а также модифицирующего действия факторов окружения.

Среди ферментов данной группы выделяются как наименее изученные карбоксиэстеразы животных организмов [2—4]. Подавляющее большинство из них часто неоправданно называют неспецифическими, поскольку активность их чаще всего обнаруживается в условиях in vitro по неспецифическим ненатуральным субстратам — ароматическим эфирам. Это в свою очередь породило весьма условное название искусственно сформированного семейства — ароматические эстеразы [1, 5]. Критические замечания по этому поводу возникли у нас в хо-

© А. М. Андриевский, В. А. Кучеров, В. Н. Тоцкий, 2004

де ознакомления с научной литературой примерно за 40-летний период развития биохимии эстераз.

Определение активности эстераз проводят либо спектрофотометрически непосредственно в пробирках путем смешивания биологической пробы с субстратом в подходящем буфере, либо гистохимически на уровне фиксированных клеток (тканей), либо в системе гелевого блока после предварительного электрофоретического разделения проб гомогенатов и экстрактов соответствующих тканей организма [6—11]. Большим преимуществом последнего методического подхода является то, что он дает возможность во многом преодолеть агрегационный эффект в действии эстераз, обладающих групповой субстратной специфичностью, и неизбежно имеющий место в инкубационном растворе в пробирке.

В связи с вышесказанным авторы настоящей работы преследовали цель оптимизировать условия экстракции и гистохимического выявления в гелевом блоке после электрофореза множественных форм эстераз, расщепляющих сложные эфиры карбоновых кислот и ароматических спиртов. Кроме того, ставилась задача выяснить электрофоретические свойства наблюдаемых форм карбоксиэстераз и их некоторые биохимические параметры. Наконец, преследовалась цель изучить онтогенетические изменения молекулярных спектров эстераз, отражающих, на наш взгляд, генетико-фенотипическое состояние дрозофилы в нормальных условиях среды при ее содержании в культуре.

Материалы и методы исследования

Исходным экспериментальным материалом служила инбредная линия *Canton-S (C-S) D. melanogaster*. Проявление внешних фенотипических признаков у этой линии (красно-коричневые глаза, серая окраска тела, нормальная форма крыла и др.) полностью совпадает с таковым у дрозофилы линии *Normal*, полученной от мух дикого типа юга Украины. Обе линии в условиях культивирования характеризуются высокой плодовитостью и жизнеспособностью.

Развитие опытной линии на обычной четырёхкомпонентной питательной среде при 25 °С проходило примерно за 10 суток.

Для приготовления ферментсодержащих экстрактов, отобранных синхронных, 3-суточных по возрасту, личинок, куколок и имаго гомогенизировали в течение 2 минут при комнатной температуре в трёх различных буферных растворах: 1) 0,1 М аланин-уксусная кислота, pH 4,5; 2) 0,1 М К, Na-фосфатный, pH 7,4; 3) 0,1 М глицин-едкий натр, pH 9,0. Соотношение массы живого материала к объему экстрагента составляло для личинок — 1 : 0, 1 : 1, 1 : 2; для куколок — 1 : 0, 1 : 1, 1 : 4; для имаго — 1 : 0, 1 : 1, 1 : 6. В отдельных случаях к гомогенатам личинок, куколок и взрослых мух добавляли β-меркаптоэтанол ("Reanal", Венгрия) в 2,5 % конечной концентрации. Полученные гомогенаты сразу же центрифугировали при 12 000 g и температуре +4 — +6 °С в течение 15 минут. После от-

деления супернатантов к осадкам добавляли исходные количества соответствующих экстрагентов с целью проведения повторной экстракции. При необходимости ферментсодержащие вытяжки хранили в замороженном состоянии при −10 °С. Полученные таким образом из личинок, куколок и имаго экстракты тканей использовали с целью электрофоретического разделения и выявления в них эстераз.

В данном исследовании для разделения белков кислой природы в основном применяли вариант щелочного электрофореза в системе трис-глицинового буфера pH 8,3. Контрольный, кислый электрофорез проводили в системе аланин-уксусного рабочего буфера pH 4,5. Разделяющая фаза носителя представляла собой пластинчатый блок (140 × 120 × 1 мм) с концентрацией полиакриламидного геля 10 %. Для приготовления геля пользовались реактивами венгерского производства (фирма "Reanal").

Полученные экстракты вносили в промытые разбавленным электродным буфером слоты в объеме 20 мкл с добавкой сахарозы и 5 мкл 0,1 % бромфенолового синего, применяемого в качестве лидирующего красителя (в условиях кислого фореза использовали метилгрюн). Сразу после нанесения проб на стартовую поверхность геля устанавливали электрический ток силой в 5 мА (на 10 минут) и 10 мА (на 20 минут), затем в 20 мА в расчёте на один гелевый блок. При комнатной температуре и соблюдении указанных условий электрофорез проходил обычно за 3 часа. При этом инактивации разделяемых ферментов не наблюдалось. После достижения лидирующим красителем финишного уровня форез прекращали, высвобождали гелевые блоки, многократно отмывали их от внутреннего буфера (исходное значение pH — 8,9) и использовали для гистохимического выявления карбоксильных эстераз. После нейтрализации внутригелевой среды каждый отдельный блок выдерживали в 50 мл подходящего буфера в течение 10—15 минут.

Для обнаружения молекулярных форм карбоксиэстераз пользовались модифицированной нами методикой, описанной ранее Л. И. Корочкиным [5]. О местонахождении фермента в геле судили по результату проведения в мягких условиях реакции одновременного азосочетания, идущей с образованием азокрасителя, с участием ароматического продукта гидролиза сложного эфира (азокомпонента) и диазония — прочного синего RR (диазокомпонента) (реактив фирмы "Chemapol", Чехия) [6].

Инкубационную среду для фиксированного в геле фермента готовили на трех различных буферных растворах, взятых в 0,1 М концентрации: 1) аланин-уксусном (pH 4,5); 2) фосфат-фосфатном (pH 7,4) и 3) NaOH-глициновом (pH 9,0). Каждую гелевую пластину помещали в пенопластовую кювету и заливали 50 мл подходящего буфера, содержащего отдельно используемые субстраты (или их смеси) в количестве 50 или 25 мг соответственно, а также прочный синий RR в количестве 50 мг. В работе было использовано четыре вида субстратов: α-нафтилацетат, β-нафтилацетат, α-нафтилпропионат и β-AS-D-на-

фтилхлорацетат ("Chemapol", Чехия). Все субстраты, а также прочный синий перед введением в буфер растворяли в 100 или 200 мкл диметилформамида (отдельно показано, что этот растворитель не искажает эстеразную активность). Реакция гидролиза субстрата и азосочетания при 25 °С длилась в большинстве случаев в течение часа. С целью более полного выявления эстераз в кислой и щелочной средах время инкубации увеличивали до 12 часов. После экспозиции реакционные смеси удаляли, а гели многократно промывали дистиллированной водой и, в случае необходимости, очищали от мелкодисперсного осадка азокрасителя с помощью мягкой кисти. Влажные гелевые блоки сканировали, оформляли в виде гистоэлектрофореграмм и анализировали полученные результаты. В качестве контроля на реакцию спонтанного азосочетания был взят гелевый блок после электрофореза в равных условиях, в слоты которого пробы экстрактов не вносили. При этом электрофоретическое разделение равных количеств использованных экстрагентов считали нецелесообразным.

Авторы выражают благодарность сотрудникам кафедры генетики и молекулярной биологии З. В. Мирось и Н. А. Стрельцовой за любезно предоставленные технические средства и исходные микропопуляции дрозофилы.

Результаты исследований и обсуждение

Прежде всего следует отметить, что деэстерификация в гелевом блоке всех используемых нами субстратов и последующая за ней реакция азосочетания наиболее интенсивно протекают в нейтральной среде при pH 7,4. При этом через 1 час инкубации обнаруживается максимальное число фракций карбоксиэстераз во всех используемых экстрактах личинок, куколок и имаго. По сравнению с этим гидролиз тех же сложных эфиров в кислой среде (pH 4,5) происходит менее активно, однако через 3 часа инкубации ферментсодержащего геля в этих условиях удается выявить все основные формы эстераз, проявляющиеся в нейтральной среде. Что касается расщепления эфиропроизводных нафтола в щелочной среде (pH 9,0), то оно выражено крайне слабо. Однако, в этом случае во всех биопробах обнаруживается одна и та же форма эстеразы (практически единственная) с ослабленной активностью. Результаты этой части работы представлены на рис. 1 (А—Ж).

Используемая издавна реакция образования нерастворимого азокрасителя из нафтолов и диазотатов, была успешно применена для обнаружения эстераз в клетках, тканях или других структурах. При этом в зависимости от природы или структуры выбираемого субстрата — эфира — можно ожидать образования азокрасителя того или иного цвета. Так, сочетание α-нафтола с прочным синим дает продукт коричневой окраски, β-нафтола с тем же диазотатом — продукт пурпурного цвета. Кроме того, интенсивность окраски либо смещение ее в ту или иную цветовую область, вероятно, зависит от молекулярного окружения частиц осадка азокрасителя, а также наложения цветов.

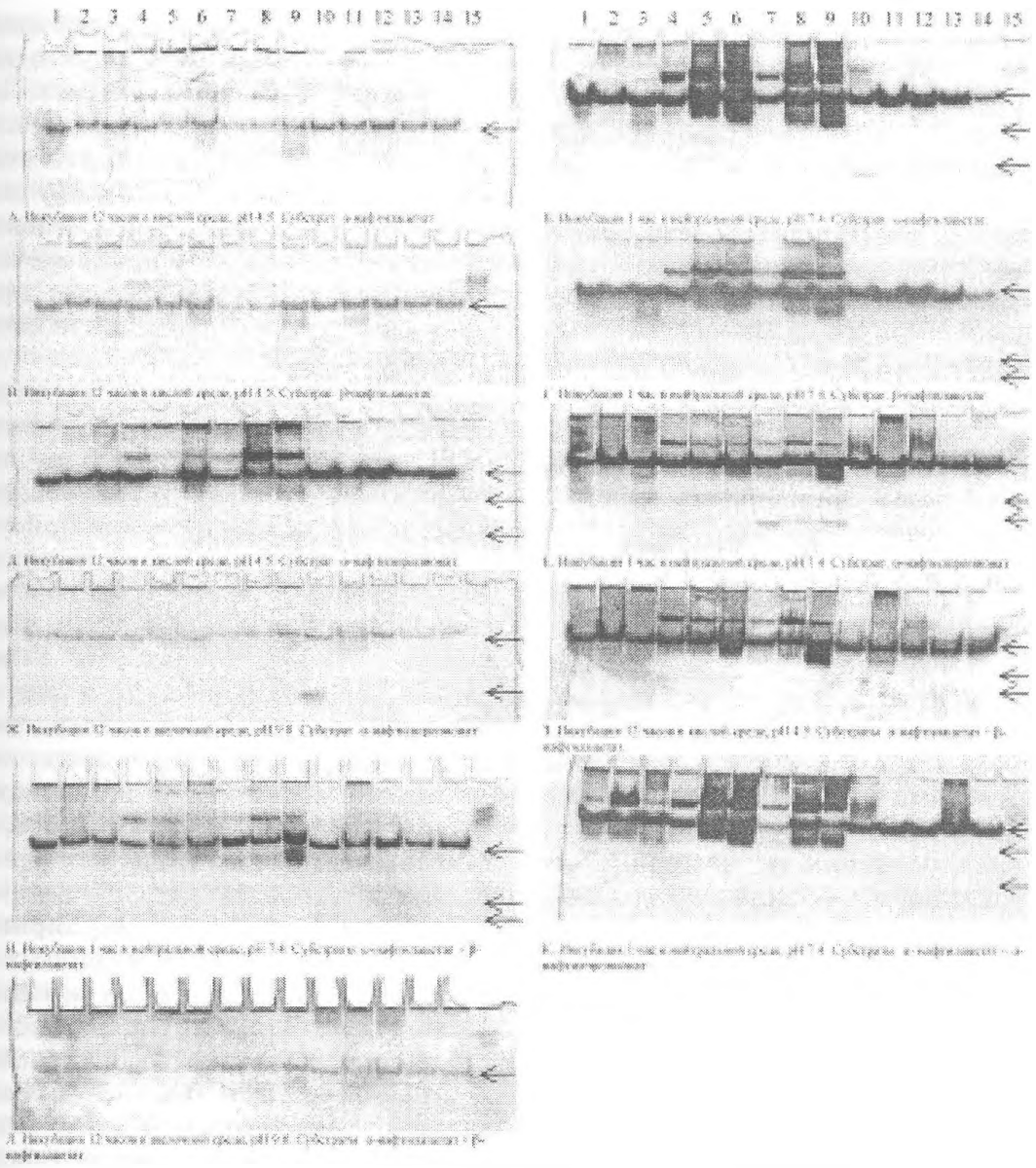


Рис. 1. Электрофоретические спектры карбоксиэстераз экстрактов тканей личинок, куколок и имаго линии *Canton-S Drosophila melanogaster*.

Слоты: 1 — личинки, экстракция — pH 4.5; 2 — личинки, экстракция — pH 7.4; 3 — личинки, экстракция — pH 9.0; 4 — куколки, экстракция 4.5; 5 — куколки, экстракция — pH 7.4; 6 — куколки, экстракция — pH 9.0; 7 — имаго, экстракция — pH 4.5; 8 — имаго, экстракция — pH 7.4; 9 — имаго, экстракция — pH 9.0; 10 — личинки, экстракция — pH 4.5 + β-меркаптоэтанол; 11 — личинки, экстракция — pH 7.4 + β-меркаптоэтанол; 12 — личинки, экстракция — pH 9.0 + β-меркаптоэтанол; 13 — куколки, экстракция — pH 7.4 + β-меркаптоэтанол; 14 — куколки, экстракция — pH 9.0 + β-меркаптоэтанол; 15 — химотрипсин панкреатический ("Reanal", Венгрия; 20 мкг; контроль на неспецифический эстеролиз).

Примечание: ← — β-фильная карбоксиэстераза.

Сказанное наглядно демонстрируется при выявлении эстераз экстрактов тканей дрозофилы при наличии в среде инкубации двух одновременно взятых субстратов: α-нафтилацетата и β-нафтилацетата. По данным, представленным на рис. 1 (З—Л), можно выделить две неодинаковые по разнообразию форм группы эстераз. Локализация в геле эстераз первой группы, представленных несколькими фракциями, связана с образованием коричневого азокрасителя. Стало быть, именно эти молекулярные формы фермента гидролизуют α-нафтилацетат. Местонахождение эстераз второй группы связано с появлением продукта пурпурной окраски. Продукт этот образуется в результате сочетания β-нафтола с прочным синим.

В соответствии с проявляющейся окраской (или особенностью строения арильной группы субстрата), выделяют две группы ароматичеких эстераз: α-эстеразы и β-эстеразы [5—7]. Исследования показали, что применение каждого из субстратов порознь дает возможность обнаружить все те основные формы эстераз, которые проявляются в присутствии обоих субстратов одновременно. При этом, в инкубационной среде с α-нафтилацетатом все изоформы эстераз в геле окрашиваются в коричневый цвет, а в случае β-нафтилацетата — в пурпурный. Следует подчеркнуть, что и в первом, и во втором случаях за 1 час инкубации достигается более интенсивная окраска ферментных зон по сравнению с таковой, выявляемой при использовании двухсубстратной среды. Основываясь на полученных данных, можно предположить, что в системе с двумя различными субстратами возникает конкуренция между ними за место в активном центре фермента. Кроме того, в таких условиях ярко проявляется α-фильность одних форм эстераз и β-фильность — других, что не имеет места в среде с одним из субстратов. Как видно из рис. 1 (З—Л), разнообразие молекулярных форм β-фильных карбоксиэстераз не совпадает с таковым α-фильных.

Что касается вопроса о влиянии природы экстрагента на элюцию эстераз из тканей дрозофилы, то следует отметить, что большинство форм ферментов экстрагируется как кислым буфером, так и нейтральным, однако более богатым как по количеству фракций карбоксиэстераз, так и по их активности является щелочной экстракт. Примечательным оказалось и то, что введение в гомогенат β-меркаптоэтанола либо препятствовало экстракции основной молекулярной формы α-фильной эстеразы, обладающей средней электрофоретической подвижностью, либо инактивировало эту фракцию фермента. Если верно последнее предположение, то не исключено, что для проявления активности α-эстераз крайне важны дисульфидные связи.

Для наиболее полного выхода различных эстераз из тканей личинок, куколок и имаго дрозофилы необходимо наличие хотя бы минимального объема экстрагента. Так, гомогенизация биоматериала без добавки какого-либо буфера (1 : 0) сильно затрудняет экстракцию этих гидролаз. Увеличение же соотношения ткани к водному растворителю до 1 : 2, 1 : 4 или 1 : 6 благоприятно сказывается на солю-

билизации всех молекулярных форм карбоксиэстераз, характерных для той или иной стадии развития дрозофилы.

Несмотря на то, что после однократной экстракции в супернатантах регистрируется высокий уровень содержания эстераз (особенно β-фильных у имаго), значительная их часть остается связанной с осаждающимися субклеточными структурами, но практически полностью вымывается в процессе повторной экстракции.

При гистохимическом выявлении эстераз дрозофилы обнаруживаются четкие онтогенетические различия, касающиеся количественно-качественных характеристик множественных молекулярных форм изучаемых ферментов у личинок, куколок и имаго. Так, у личинок проявляется единственная мажорная фракция β-фильной эстеразы, дающая положительную реакцию гидролиза как с α-нафтилацетатом, так и с α-нафтилпропионатом. α-Нафтилацетазная активность связана с появлением свойственной только куколкам и имаго формы α-эстеразы. Эта эстераза, (Rf = 0.17) обладает высокой активностью по отношению и к другим субстратам — β-нафтилацетату, α-нафтилпропионату). Как видно из электрофореграмм, она всегда располагается перед β-фильной карбоксиэстеразой. Имагинальным формам мухи также свойственно наличие основной активной α-фильной фракции эстеразы с теми же общими характеристиками. Что касается наличия минорных компонентов эстераз, то они выявляются с разной экспрессивностью в зависимости от стадии развития плодовой мушки. Наиболее полно они определяются по α-нафтилпропионату и составляют на фореграммах группу быстродвижущихся белков. Наименее подвижные фракции α-фильных эстераз характерны в основном для имагинальной фазы развития дрозофилы. Их отличает плохая фокусируемость. Однако, качество фореза можно существенно улучшить путем введения в экстракт (но не в гомогенат) неионного детергента (например, тритона X-100).

Таким образом, путем электрофореза в полиакриламидном геле нам удалось достичь разделения группы карбоксиэстераз, присутствующих в экстрактах тканей дрозофилы. В зависимости от стадии развития насекомого эстеразный спектр включает одну, две или три основные фракции, обладающие α- и β-нафтилацетазной активностью, и 2—4 — дополнительные. Каждая из выявленных фракций способна деэстерифицировать также α-нафтилпропионат. По всей видимости, разнообразие карбоксиэстераз дрозофилы ограничивается белками кислой природы, что значительно упрощает исследование этих ферментов путем щелочного электрофореза. В отдельном эксперименте (вариант кислого фореза) нами было однозначно показано отсутствие в различных экстрактах личинок, куколок и имаго тех или иных щелочных форм карбоксиэстераз.

Таким образом, полученные нами данные указывают на то, что в ходе индивидуального развития дрозофилы цитоплазматическая, а также, вероятно, и гемолимфатическая системы деэстерификации испытывают существенные изменения. С одной стороны, это может быть

связано с перерывом в режиме питания насекомого на стадии кукол ки, а с другой — с запуском механизма реализации генетической программы клеток имагинальных органов и тканей, начало развития которых совпадает с началом куколочной стадии. Таким образом появление новых молекулярных форм карбоксиэстераз можно связы вать с дифференциальной активностью генов, которая регулируется в ходе онтогенеза.

Судя по опубликованным работам, посвященным исследовани карбоксиэстераз, наиболее полно изучены эти ферменты у млекопита ющих. У этих организмов выделяют несколько самостоятельных се мейств эстераз, включающих, вероятно, разное количество полиморф ных форм. Сложность изучения данной группы энзимов состоит в том что практически все они могут проявлять групповую субстратну специфичность, что сильно затрудняет их идентификацию. Небогаты выбор малоспецифичных искусственных субстратов позволяет лиш выявить (да и то не всегда и не полностью) многообразие эстераз. Чт же касается их идентификации, то здесь исследователи встречаются серьезными трудностями. Иногда задачу удается разрешить, использу специфические ингибиторы тех или иных эстераз. Так, применяя ди изопропилфторфосфат или эзерин, можно блокировать ацетилхолинэс теразы и холинэстеразы; добавляя в инкубационную среду $CuSO_4$ инактивируют ароматические эстеразы (того же эффекта добиваются применяя п-хлормеркурибензоат). К сожалению, одни и те же соеди нения, вызывая инактивацию одних эстераз и стимулируя другие, н всегда однозначно и предсказуемо ведут себя по отношению к фер ментам разного происхождения.

Полученные нами данные могут существенно дополнить сведения многообразии молекулярных форм карбоксиэстераз у дрозофилы побуждают к проведению дальнейших исследований, направленных н идентификацию, изучение физико-химических свойств, выяснение ге нетической детерминации и онтогенетического контроля выявляемы фракций карбоксиэстераз.

Выводы:

1. С помощью реакции азосочетания в полиакриламидном гел обнаруживается активность множественных молекулярных фор карбоксиэстераз экстрактов тканей дрозофилы по гидролизу о и β-нафтилацетата, β-AS-D-нафтилхлорацетата, а также α-нафтил пропионата.
2. Применяемые синтетические субстраты с наибольшей скорость гидролизуются в нейтральной среде, что вполне может соответс твовать условиям реализации активности изучаемых ферменто in vivo.
3. В ходе онтогенеза от стадии личинки до стадии половозрело мухи наблюдаются существенные изменения в спектрах множе ственных молекулярных форм исследуемых эстераз.

4. На стадиях куколки и имаго выявлена электрофоретически медленноподвижная высокоактивная фракция α-фильной эстеразы, отсутствующая у личинок.

Литература

1. *Диксон М., Уэбб Э.* Ферменты. — М.: Мир, 1966. — 816 с.
2. *Ruvolo-Takasusuki Maria Claudia C., Collet Thais.* Characterization of Nasutitermes globiceps (Isoptera: Termitidae) esterases // Biochem. Genet. — 2000. — V. 38, № 11—12. — P. 367—375.
3. *Иванова Евгения, Стойкова Теодора, Вълчев Иван, Колева Стела, Мурлева Петя.* Електрофоретично проучване на неспецифичните естерази при вида Reticulitermes lucifugus, разпространен в България // Науч. тр. Биол. / Пловдив. унив. — 1999. — Т. 35, № 6. — С. 99—103.
4. *Tecles F., Martinez-Subiela S., Ceron J. J.* Technical considerations for improving cholinesterase determination in whole blood of domestic animals: Pap. 9th Congress International Society of Animal Clinical Biochemistry "ISACB 2000: Animal Clinical Biochemistry", Toulouse, 17—20 July, 2000 // Rev. med. vet. (France). — 2000. — 151, № 7. — P. 778.
5. *Корочкин Л. И., Серов О. Л., Пудовкин А. И.* и соавт. Генетика изоферментов. — М.: Наука, 1977. — 275 с.
6. *Берстон М.* Гистохимия ферментов. — М.: Мир, 1965. — 464 с.
7. *Лизосомы.* Методы исследования / Под ред. Д. Дингла. — М.: Мир, 1980. — 342 с.
8. *Тоцкий В. Н., Хаустова Н. Д., Андриевский А. М., Гандирук Н. Г., Белова Г. И., Есеркепова Е. В.* Экспрессивность ген-энзимных систем и показатели жизнеспособности в онтогенезе инбредных линий и гибридов дрозофилы // Генетика. — 1990. — Т. 26, № 10. — С. 1791—1799.
9. *Никольская Е. Б., Кугушева Л. И.* Возможность применения карбоксиэстераз в химическом анализе // Ж. анал. химии. — 1999. — Т. 54, № 2. — С. 153—158.
10. *Sprung J., Srinivasan V., Castellani W. J., Udayashankar S.* Effects of acetylcholinesterase inhibitors donepezil and neostigmine on pseudocholinesterase activity in vitro: Abstr. 73rd Clinical and Scientific Congress of the International Anesthesia Research Society, Los Angeles, Calif., March 12—16, 1999 // Anesth. and Analg. — 1999. — V. 88, № 2, Suppl. — P. 235.
11. *Rivas de la Vega Yaelis, Gonzales Lavaut Jose A., Avila Gonzales Rizette, Ruiz Caballero Ritsie, Sordo Martinez Lisette, Castro Nodal Mayra.* Estudio del proceso de extraccion de esterasa a partir de Plexaura homomalla y evaluacion de su actividat enzimatica // Acta farm. bonaerense. — 1999. — V. 18, № 3. — P. 165—170.

О. М. Андрієвський, В. О. Кучеров, В. М. Тоцький
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра генетики та молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

МЕТОДИЧНІ ПРОБЛЕМИ ВИВЧЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ КАРБОКСИЕСТЕРАЗ В ОНТОГЕНЕЗІ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Резюме

Методом електрофореза у поліакриламідному гелі вивчено різноманітність молекулярних форм карбоксиестераз у личинок, лялечок та імаго дрозофіли. Підібрано та оптимізовано умови екстракції та гістохімічного виявлення досліджуваних ферментів. Встановлено електрофоретичні властивості всіх екстрагованих естераз су-

марних тканин плодової мушки. Показано онтогенетичні зміни у молекулярних спектрах карбоксиестераз. Висловлюється припущення про те, що якісно-кількісні зміни у наборах карбоксиестераз у ході розвитку комахи пов'язані з онтогенетично залежною експресією відповідних генів естераз.

Ключові слова: гістохімія, естерази, онтогенез, дрозофіла.

A. M. Andrievsky, V. A. Koocherov, V. N. Totsky
Odessa National I. I. Mechnicov University,
Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukrain

THE METHODICAL PROBLEMS OF STUDYING OF THE CARBOXYESTERASES' POLYMORPHISM IN THE ONTOGENESIS OF DROSOPHILA MELANOGASTER

Summary

The variety of carboxyesterases' molecular forms of larvas, chrysalises and imagos of drosophila has been studied with the help of the method of polyacrylamid gel electrophoresis. The conditions of extraction and histochemical detection of the studied ferments have been selected and optimized. The electrophoretic properties of all extracted esterases of drosophila's summary tissues were established. The ontogenetical changes in molecular spectrums of carboxyesterases have been revealed. It is assumed that the qualitative and quantitative changes in the sets of carboxyesterases are connected with ontogenetically dependent expression of corresponding gens of esterases in process of the insect's development.

Key words: histochemistry, esterases, ontogenesis, drosophila.

УДК 577.15

І. Л. Вовчук [1], канд. біол. наук, доц., **С. С. Чернадчук** [1], асп.,
Ю. В. Блохін [2], доц., **Г. С. Раздражнюк** [3], зав. патоморфологічної лаб.
[1] Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова, кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна. Тел: (0482) 68-78-75
e-mail: irvov@mail.ru

[2] Одеський медичний університет ім. В. І. Пірогова,
кафедра судової медичної експертизи,
пр. Валіхівський, 2, Одеса, 65026, Україна

[3] Одеський хірургічний онкологічний диспансер,
патоморфологічна лабораторія,
вул. Нежданова, 32, Одеса, 65007, Україна. Тел: (0482) 732-72-03

АКТИВНІСТЬ КАРБОКСИПЕПТИДАЗ У ТКАНИНАХ НОВОУТВОРЕНЬ ТІЛА МАТКИ

Досліджена активність карбоксипептидаз А і В доброякісних та злоякісних новоутворень тіла матки. Встановлено, що у доброякісних новоутвореннях активність карбоксипептидаз змінюється в залежності від проліферуючого потенціалу пухлинних клітин міометрія та ендометрія. Активність карбоксипептидаз А і В в злоякісній епітеліальній пухлині ендометрія — аденокарциномі — прямопропорційна ступеню диференціації пухлинних клітин.

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

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

Основними представиками лізосомальних екзопептидаз є карбоксипептидази А і В (КФ 3.4.12А.1.).

Лізосомальна карбоксипептидаза А синтезується у підшлунковій залозі у вигляді неактивного попередника — прокарбоксипептидази А, яка може перетворюватися в активний фермент під впливом трипсину, хімотрипсину, плазміну, субтилізину, урокінази. Дана карбоксипептидаза містить атоми Zn^{2+} та широко використовується в препаративній біохімії для визначення С-кінцевих амінокислот [1].

Що стосується специфічності карбоксипептидази В, то вона здатна гідролізувати С-кінцеві пептидні зв'язки багатьох природних пептидів і поліпептидів — глюкагону, А- і В-ланцюгів інсуліну, брадикінину, ангіотензинів I і II та окситоцину [8].

Карбоксипептидази А і В мають пептидазну та естеразну активність. Будучи типовими пептидазами, вони діють як на білки, так і на низькомолекулярні субстрати [2].

© І. Л. Вовчук, С. С. Чернадчук, Ю. В. Блохін,
Г. С. Раздражнюк, 2004

Збільшення активності карбоксипептидази А виявлено за епітеліальної трансплантованої ацинарної карциноми підшлункової залози щурів [3], експериментальної глюкокортикостероїдної міопатії у кролів [4], в клітинах підшлункової залози великої рогатої худоби при вірусіндукованому діабеті [5] та при захворюваннях подшлункової залози, які супроводжуються появою 2-х форм карбоксипептидази, відсутніх у здорових людей [6].

Окремими дослідниками була встановлена антиканцерогенна дія карбоксипептидази А, яка індукує диференціацію проліферуючих клітин при еритролейкемії у щурів [7], а в культурі клітин андрогеннезалежного раку простати виявлена її гіперацитилююча дія на гістони [8].

Активність карбоксипептидази В значно збільшується при гострому панкреатиті, що дозволило використовувати метод визначення активності даного ферменту для діагностики і прогнозування панкреатичних некрозів [9]. Однак, у світовій літературі нами не виявлено досліджень, присвячених активності карбоксипептидаз А і В за онкопатології тканин тіла матки.

Мета нашої роботи — дослідження активності карбоксипептидаз А і В в тканинах новоутворень тіла матки з урахуванням вікових змін жіночого організму.

Матеріали і методи

Досліджували гомогенати неураженої тканини тіла матки та зразки 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 °С) протягом 45 хвилин.

Патоморфологічні діагнози були верифіковані за міжнародною класифікацією ВОЗ із визначенням морфологічного стану і ступеня диференціації трансформованих клітин пухлинної тканини [10].

У супернатанті визначали активність карбоксипептидази А по гідролізу синтетичного субстрату Hippuryl-Phe — 2 мМ [11], активність карбоксипептидази В — по гідролізу Hippuryl-Arg — 2 мМ [11] та вміст білка — за методом Lowry [12].

Оптичну щільність визначали при довжині хвилі 570 нм, відносну активність ферментів виражали в ммолях фен (арг) / мг тканини за 30 хв. інкубації при 37 °С, питому активність — в мкмолях фен (арг) / мг білка.

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

Результати та їх обговорення

Дослідження активності карбоксипептидаз А і В в тканинах тіла матки без патології не виявило вірогідної різниці показників у жінок

різного віку (табл. 1, табл. 2). В той же час активність досліджуваних екзопептидаз у зразках доброякісних та злоякісних новоутворень вірогідно зменшувалась у жінок віком після 60—70 років (табл. 1, табл. 2). У жінок однієї вікової групи активність карбоксипептидази А (табл. 1) вірогідно збільшувалась у тканинах злоякісних пухлин як у порівнянні з неураженою тканиною тіла матки, так і по відношенню до тканин доброякісних новоутворень. З цього правила виняток складають жінки віком 61—70 років. Активність карбоксипептидази В (табл. 2), також як і активність карбоксипептидази А, вірогідно збільшувалась у тканинах злоякісних пухлин у порівнянні з неураженою тканиною, однак, навідмінно від карбоксипептидази А, досліджуваний показник не змінювався за розвитку неопластичних процесів у тілі матки жінок однієї вікової групи (табл. 2).

Вивчення активності карбоксипептидаз А і В в тканинах новоутворень міометрія, у порівнянні з тканинами неушкодженого міометрія, показало вірогідне збільшення відносної (в 1,4 і 2,1 рази відповідно) та питомої (в 2,1 і 3,4 рази) активності ферментів за наявності новоутворень з великим проліферативним потенціалом (табл. 3).

У зразках новоутворень ендометрія у порівнянні з неураженою тканиною встановлено збільшення активності досліджуваних ферментів (в 1,4—2,2 рази) за наявністю одночасно гіперпластичних і неопластичних процесів (табл. 3). Збільшення активності цих ферментів може здійснюватися за рахунок більш інтенсивної експресії генів, кодуючих їх структуру, що було показано роботами Kikuchi (1989) на трансгених щурах, в цитоплазмі яких доведено збільшення кількісного рівня мРНК [7] за наявності пухлин. Іншою причиною може бути активація ферментів під впливом метаболітів пухлини. Крім того, слід зазначити, що при гіперпластичних процесах (ендометріоз, аденоматоз, аденоматоз + залозо-кістозна гіперплазія, ендометріоз + аденоматоз + залозо-кістозна гіперплазія) нами встановлено значне зниження вмісту білка, що, можливо, є одним із пояснень збільшення питомої активності ферментів.

Вивчення активності карбоксипептидаз А і В за злоякісного процесу в тканинах тіла матки виявило збільшення активності ферментів (відносно до показників неураженої тканини), за винятком зразків низькодиференційованої аденокарциноми (табл. 4).

Дослідження активності карбоксипептидаз у зразках аденокарцином різного ступеня диференціації (табл. 4) виявило, що по мірі зниження ступеня диференціації пухлинних клітин активність досліджуваних ферментів падає.

Зниження активності карбоксипептидаз в низькодиференційованих, бластоматозних злоякісних пухлинах, на наш погляд, може свідчити про порушеня біологічних функцій даних ферментів та виключення їх з процесу обміну білків.

Таблиця 1

Активність карбоксипептидази А у тканинах тіла матки жінок різного віку

Вік, років	Неуражена тканина			Доброякісні новоутворення			Злоякісні пухлини		
	С білка, г/г тканини	ммоль фен/мг тканини	мкмоль фен/мг білка	С білка, г/г тканини	ммоль фен/мг тканини	мкмоль фен/мг білка	С білка, г/г тканини	ммоль фен/мг тканини	мкмоль фен/мг білка
30-40	0,068±0,008 (n=27)	0,094±0.010	1,382±0.120	0,042±0,003 (n=45)	0,125±0.011	* 2.976±0.312	—	—	—
41-50	0,060±0,006 (n=25)	0,099±0.010	1.650±0.179	0.045±0.004 (n=55)	0.115±0.013	* 2.555+0.267	0.047±0,006 (n=10)	* # 0,175±0.038	* # 3.723+0,413
51-60	0.063±0,005 (n=25)	0,080±0,009	1,269±0,128	0.037±0.003 (n=52)	0.106±0,009	* 2.864±0.333	0.037±0.004 (n=14)	* # 0.160±0.034	* # 4.324±0.497
61-70	0,046±0,004 (n=25)	0,070±0,008	1.521±0.163	0,032±0.002 (n=37)	* 0.126±0.011	* 3,937±0,402	0.067±0.007 (n=7)	* # 0,206±0.042	* # 3,074±0.407
Більше 70	—	—	—	0.058±0.007 (n=25)	↓ 0,021±0.003	↓ 0.362±0.024	0.056±0.006 (n=5)	# 0.112±0.029	↓ # 2.000±0.307

Примітка: * — вірогідне збільшення активності ферменту за патології у порівнянні з неураженими тканинами;

↓ — вірогідне зниження активності ферменту за патології, пов"язане з віком досліджуваних осіб;

— вірогідна різниця між показниками тканин злоякісних пухлин тіла матки і тканинами доброякісних новоутворень у жінок однієї вікової групи

Таблиця 2

Активність карбоксипептидази В у тканинах тіла матки жінок різного віку

Вік, років	Неуражена тканина			Доброякісні новоутворення			Злоякісні пухлини		
	С білка, г/г тканини	ммоль арг/мг тканини	мкмоль арг/мг білка	С білка, г/г тканини	ммоль арг/мг тканини	мкмоль арг/мг білка	С білка, г/г тканини	ммоль арг/мг тканини	мкмоль арг/мг білка
30-40	0.068±0.008 (n=27)	1.908±0.200	28.058±2.656	0,042±0,003 (n=45)	2,400±0,236	57.142±5.678*	0.051±0.004 (n=5)	2.346±0.251	46.000±5.025*
41-50	0.060±0,006 (n=25)	1.616±0.154	26.940±2.512	0.045±0,004 (n=55)	2,433±0.228*	54.066±5,395*	0.047±0.006 (n=10)	2,623±0.280*	55.808±6.621*
51-60	0.063±0.005 (n=25)	1,560±0,160	24,761±2.501	0,037±0,003 (n=52)	2,322±0,220*	62,756±6,321*	0.037±0.004 (n=14)	2.125±0.200*	57.432±6.802*
61-70	0,046±0.004 (n=25)	1.445±0,138	31,413±3,450	0.032±0,002 (n=37)	1,560±0.148↓	48.750±5.007*↓	0.067±0,007 (n=7)	2.289±0.237*#	34.164±4.387#
Більше 70	—	—	—	0.058±0.007 (n=25)	1.324±0,123↓	22.827±2,311↓	0.056±0.006 (n=5)	1.257±0.102↓	22.446±2.428↓

Примітка: * — вірогідне збільшення активності ферменту за патології у порівнянні з неураженими тканинами;

↓ — вірогідне зниження активності ферменту за патології, пов"язане з віком досліджуваних осіб;

— вірогідна різниця між показниками тканин злоякісних пухлин тіла матки і тканинами доброякісних новоутворень у жінок однієї вікової групи

Таблиця 3

Активність карбоксипептидаз А і В в тканинах тіла матки

Патоморфологічний критерій	n	С білка, г/г тканини	Карбоксипептидаза А		Карбоксипептидаза В	
			ммоль фен/ мг тканини	мкмоль фен/ мг білка	ммоль арг/ мг тканини	мкмоль арг/ мг білка
Тканина неураженого міометрія	102	0.064±0.006	0,122±0,011	1,906±0,198	1.561±0,145	24.390±2.278
Доброякісні новоутворення міометрія: фіболейоміома	42	0.043±0.004↓	0,074±0,006↓	1.720±0.164	1.510±0.146	35.116±2.845↑
фіболейоміома проліферуюча	31	0.039±0.003↓	0,178±0,014↑	4.564±0.476↑	3.311±0.311↑	84.871±7.986↑
Тканина неураженого ендометрія	102	0,058±0.006	0.106±0,009	1.827±0,167	1,700±0,165	29.310±3.015
Доброякісні новоутворення ендометрія: кістоматозна атрофія	16	0,058±0.006	0.102±0.008	1.758±0,154	2.652±0.221↑	45.683±3.980↑
ендометріоз	29	0,032±0.003↓	0,133±0.011	4.156±0.398↑	1.000±0.087	31.252±3.074
залозо-кістозна гіперплазія	12	0,043±0.003↓	0.116±0.010	2.697±0.234↑	2.320±0.227↑	50.431±4.963↑
ендометріоз + залозо-кістозна гіперплазія	11	0.056±0,006	0.199±0.020↑	3.553±0.370↑	1.583±0.127	25.950±2.111
аденоматоз	15	0,038±0.004↓	0.144±0,012↑	3.789±0.378↑	2.703±0.288↑	71.050±6.131↑
аденоматоз + залозо-кістозна гіперплазія	15	0,033±0.002↓	0,099±0.007	3.000±0.313↑	1.871±0,149	53,434±4.960↑
ендометріоз + аденоматоз + залозо-кістозна гіперплазія	27	0,035±0.003↓	0,236±0.018↑	6.742±0,689↑	2.520±0.231↑	76.360±6.838↑

Примітка: ↑-↓ — вірогідна різниця між показниками неуражених тканин тіла матки і тканинами новоутворень (P<0,05)

Таблиця 4

Активність карбоксипептидази А і В в тканині ендометрія

Патоморфологічний критерій	n	С білка, г/г тканини	Карбоксипептидаза А		Карбоксипептидаза В	
			ммоль фен/мг тканини	мкмоль фен/мг білка	ммоль арг/мг тканини	мкмоль арг/мг білка
Тканина неураженого ендометрія	102	0,058 ± 0,006	0,106 ± 0,009	1.827 ± 0,167	1,700 ± 0,165	29,310 ± 3,015
Високодиференційована аденокарцинома	14	0,055 ± 0,004	0,152 ± 0,010*	2,760 ± 0,270*	2,711 ± 0,250*	49,207 ± 4,678*
Помірнодиференційована аденокарцинома	19	0,055 ± 0,004	0,132 ± 0,011*	2,406 ± 0,244*	2,427 ± 0,205*	44,000 ± 3,927*
Низькодиференційована аденокарцинома	8	0,066 ± 0,006	0,102 ± 0,011↓	1,308 ± 0,107↓	2,142 ± 0,193↓	32,428 ± 3,180↓

Примітка: * — вірогідне збільшення активності ферментів у тканинах пухлин;

↓ — вірогідне зниження активності ферментів низькодиференційованої аденокарциноми по відношенню до пухлин іншого ступеня диференціювання клітин

Висновки:

1. За доброякісних новоутворень ендометрія та міометрія активність карбоксипептидаз А і В в тканинах змінюється в залежності від проліферуючого потенціалу пухлинних клітин.
2. Активність карбоксипептидаз А і В злоякісної епітеліальної пухлини ендометрія — аденокарциноми — прямопропорційна ступеню диференціації пухлинних клітин.
3. Активність карбоксипептидаз А і В в новоутвореннях тіла матки вірогідно зменшується у жінок після 70 років у порівнянні з жінками інших вікових груп.

Література

1. *Peterson L. M., Holmguist B.* Human serum procarboxypeptidase A // Biochemistry. — 1983. — V. 22. — № 13. — P. 3077—3082.
2. *Spilburg C. A., Bethune J. L.,Valee B. L.* Kinetic properties of crystalline enzymes. Carboxypeptidase A // Biochemistry. — 1977. — № 16. — P. 1142—1150.
3. *Hansen L. J., Mangkorkanok/Mark M., Reddy J.* Immunohistochemical localization of pancreatic exocrine enzymes in normal and neoplastic pancreatic acinar epithelium of rat // J. Histochem. Cytochem. — 1981. — V. 29. — № 2. — P. 309—313.
4. *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.
5. *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.
6. *Borulf S., Lindberg T., Hansson L.* Agarose gel electrophoresis of duodenal juice in normal condition and in children with malabsonption // Scand. J. Gastroenterol. — 1979. — V. 14. — № 2. — P. 151—160.
7. *Kikuchi M., Fukuyama K., Hirayama K., Epstein W.* Purification and characterization of carboxypeptidase from terminally differentiated rat epidermal cells // Biochim. Biophys Acta. — 1989. — V. 991. — № 1. — P. 19—24.
8. *Сологуб Л. І., Пашковська І. С., Антоняк Г. Л.* Протеази клітин та їх функція — К: Наукова думка. — 1992. — 195 с.
9. *Serum* levels of procarboxypeptidase B and its activation peptide in patients with acute pancreatitis and non- pancreatic diseases / Muller C. A., Apperlos S., Unk W., Buchler M et al. // Gast. — 2002. — V. 51. — N 2. — P. 229—235.
10. *Всемирная* Организация Здравоохранения // Материалы ежегодных отчетов. — Санкт-Петербург. — 1981. — 286 с.
11. *Bradshaw R. S.*, et al. // Proc. Natl. Acad. Sci USA. — 1969. — V. 63. — P. 1389—1394.
12. *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.
13. *Рокицкий П. Ф.* Биологическая статистика. — Минск: Высш. Школа. — 1967. — 326 с.

И. Л. Вовчук, С. С. Чернадчук, Ю. В. Блохин, Г.С. Раздражнюк
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина. e-mail: irvov@mail.ru

Одесский медицинский университет им. В. И. Пирогова,
кафедра судебной медицинской экспертизы,
пр. Валиховский, 2, Одесса, 65026, Украина.

Одесский хирургический онкологический диспансер,
патоморфологическая лаборатория,
ул. Нежданова, 32, Одесса, 65007, Украина.

АКТИВНОСТЬ КАРБОКСИПЕПТИДАЗ В ТКАНЯХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ТЕЛА МАТКИ

Резюме

Изучена активность карбоксипептидаз А и В в доброкачественных и злокачественных новообразованиях тела матки. Установлено, что в доброкачественных новообразованиях активность карбоксипептидаз изменяется в зависимости от пролиферативного потенциала опухолевых клеток миометрия и эндометрия. Активность карбоксипептидаз А и В в злокачественной эпителиальной опухоли эндометрия — аденокарциноме — прямопропорциональна степени дифференциации опухолевых клеток.

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

I. L. Vovchuk, S. S. Chernadchuk, U. V. Blohin, G. S. Razdrazhnuk
Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine, e-mail: irvov@mail.ru

Odessa Medical V. I. Pirogova University,
Department of legal expertise,
Valihovskiy St., 2, Odessa, 65026, Ukraine.

Odessa dispanser of oncology and surgery, patomorfology laboratory,
Nezhdanova St., 32, Odessa, 65007, Ukraine.

TISSUE CARBOXYPEPTIDASES ACTIVITY OF THE WOMEN WITH WOMB BODY ONCOPATHOLOGY

Summary

A and B carboxypeptidases activity was studied in the benignant and the malignant tumors of the womb body. It was determined that the activity of carboxypeptidases depending on the vastness and depth of the oncoprocess in the benignant tumors is defined by proliferating potential of tumor cells of miometrial and endometrial. The A and B carboxypeptidases activity in malignant epithelial tumor of endometrial — adenocarcenoma — is inversely proportional to the level of differentiation of the tumor cells.

Keywords: carboxypeptidases , endometrial, miometrial, adenocarcenoma, tumor.

УДК 577.151/152

О. А. Волков, студ., **М. Г. Магла**, асп., **О. О. Прутянова**, здобувач,
С. А. Петров, д-р біол. наук, проф.
Одеський національный університет ім. І. І. Мечникова, кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65026, Україна, E-mail: sheephunter@rambler.ru

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ ТІАМІНУ ТА ЙОГО ПОХІДНИХ У ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ПРЕПАРАТАХ

Розроблено спектрофотометричний експрес-метод визначення тіаміну і тіамінпірофосфату (ТПФ) та продуктів їх розпаду в ампульованих фармацевтичних препаратах. Встановлено розходження у спектрах поглинання продуктів гідролізу та окиснення тіаміну, що дає можливість використовувати цей метод для тестування медичних препаратів, що містять тіамін.
Ключові слова: спектрофотометрія, тіамін, ТПФ, 4-метил-5β-оксиетилтіазол, тіохром

Серед вітамінних медичних засобів особливе місце посідають тіамінвмісні препарати, які широко застосовуються в медичній практиці [1, 2]. В зв'язку з тим, що за останній час з'явилося багато нових нелі-цензованих фармацевтичних препаратів, якість яких викликає сумніви, виникає необхідність контролю якісного та кількісного складу цих сполук, а також визначення ступеня їх руйнування в процесі зберігання.

На даний момент у біохімічних дослідженнях використовують дві основних методи визначення тіаміну та його метаболітів. Перший метод — флуориметричний — ґрунтується на окисненні тіаміну до тіохрому і визначенні флуоресценції останнього. Вперше цей метод був запропонований ще у 1936 р. Янсеном [3] і потім багаторазово модифікувався. Найбільш вдалу модифікацію цього методу розробили Г. Д. Єлісєєва [4]. Ця модифікація дозволяє визначити вміст вільного тіаміну та його фосфорних ефірів у різних біологічних об'єктах.

Друга група методів — це хроматографічні методи, які використовуються в основному для дослідження метаболізму тіаміну в організмі після введення міченого вітаміну [5, 6]. Щодо визначення катаболітів тіаміну, то в цьому напрямку є поодинокі праці, що стосуються, в основному, дослідження сечі [7].

Обидві групи методів досить тривалі, вимагають наявності певного мінімуму лабораторного обладнання і, крім того, не дозволяють одночасно визначати вміст вільного тіаміну та його основних похідних. Тому ми поставили завдання розробити експрес-метод, за допомогою якого можна було б за короткий час визначати вміст вільного тіаміну та його основних метаболітів та продуктів розпаду.

© О. А. Волков, М. Г. Магла,
О. О. Прутянова, С. А. Петров, 200

Матеріали і методи

В дослідах використовували водні розчини ампульованих фармацевтичних препаратів тіаміну і ТПФ, а також спиртові розчини 4-метил-5-b-оксиетилтіазолу і тіохрому концентрацією 0,03 мМ.

На спектрофотометрі СФ-4А вимірювали оптичну щільність цих розчинів в діапазоні довжин хвиль від 210 до 600 нм і визначали хвильові зони максимумів спектрів поглинання.

Результати дослідженення

Як свідчать результати, наведені на рис. 1, тіамін і ТПФ характеризуються схожими спектрами поглинання, що обумовлено досить близькою структурою цих речовин. Обидві сполуки мають два плато максимумів спектрів поглинання, які знаходяться в діапазонах довжин хвиль 240—270 нм і 470—530 нм відповідно. Це явище можна пояснити наявністю у даних речовин двох основних складових компонентів — пірімідинового та тіазолового кілець (рис. 2).

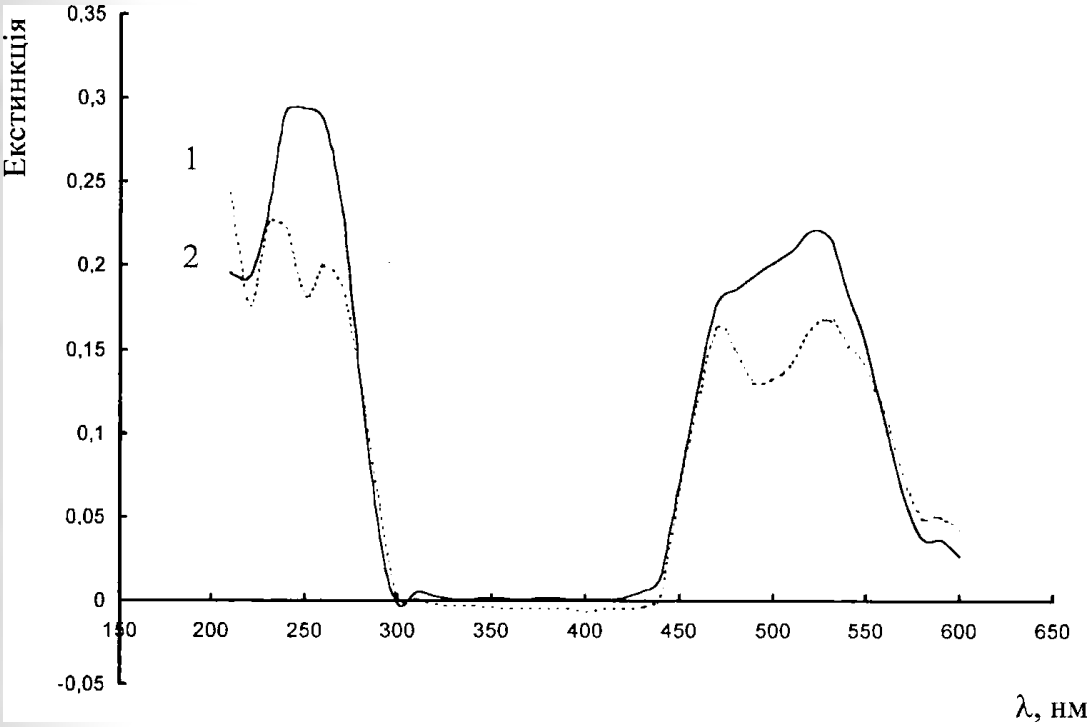


Рис. 1. Спектри поглинання тіаміну (1) та тіамінпірофосфату (2)

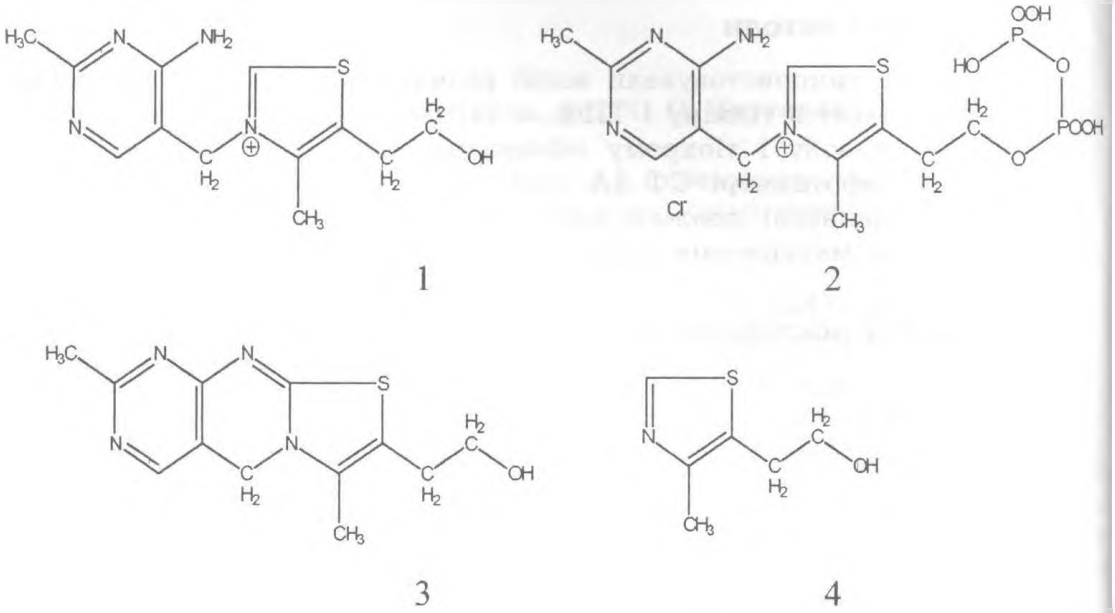


Рис. 2. Структурні формули:
1. тіаміну
2. тіамінпірофосфату
3. тіохрому
4. 4-метил-5-β-оксиетилтіазолу

Очевидно, тіазолове кільце обумовлює максимум спектра поглинання при 240—270 нм, а пірімідинове — при 470—530 нм [8]. Це припущення підтверджується данними, що наведені на рисунку 3.

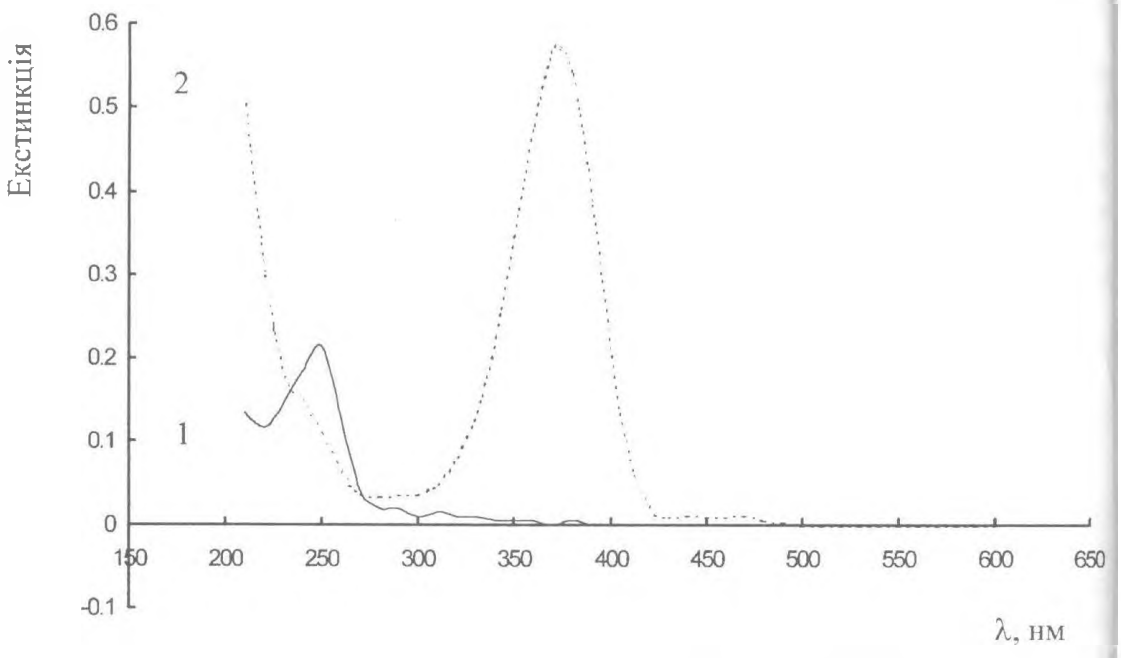


Рис. 3. Спектри поглинання тіазолу (1) та тіохрому (2)

З цього рисунка видно, що 4-метил-5-b-оксиетилтіазол має пік екстинкції при 250 нм. Щодо тіохрому, то тут спостерігається два піки у спектрі поглинання — при довжинах хвиль 210 нм і 370 нм. Максимальні значення екстинкції спостерігаються на рівні другого піку при 370 нм. Такий пік характерний тільки для цієї сполуки. Перший пік, напевно, обумовлений наявністю у структурі тіохрому тіазолового кільця, але із-за різниці в структурі молекул тіаміну, ТПФ і тіохрому останній порівняно з першими двома виявляє зсув максимуму поглинання в область більш коротких хвиль — від 250 до 210 нм.

Виходячи із отриманих результатів, можна зробити висновок, що тіамін і ТПФ мають два плато максимумів спектрів поглинання, тоді як похідні тіаміну, а саме продукт окиснення — тіохром і продукт гідролізу — 4-метил-5-β-оксиетилтіазол характеризуються одиночними піками екстинкцій при 370 і 250 нм відповідно. Отже, ці характеристики можна використовувати для якісного і кількісного аналізу фармацевтичних препаратів тіаміну. Зокрема, за місцезнаходженням піків і по співвідношенню їх величин можна отримати інформацію про ступінь і характер розпаду тіаміну і ТПФ у фармацевтичних препаратах.

Література

1. *Кокарбоксилаза* и другие тиаминфосфаты. Под ред. Островского Ю. М. — Мн.: Наука и техника, 1974., 265 с.
2. *Островский Ю. М.* Тиамин. Избранные главы по биохимии витамина B_1. — Мн.: Беларусь, 1971. — 144 с.
3. *Jansen B. C. P.* A chemical determination of aneurine by thiochrome reaction // Rec. Trav. Chem. Phys. Bas. — 1936. — V. 55. — P. 1046—1058.
4. *Елисеева Г. Д.* Флуориметрическое определение тиамина, кокарбоксилазы и рибофлавина в биологических объектах // Витамины. Сб. I. Методы исследования, естественные ресурсы и биохимия витаминов. — 1953. — С. 53—54.
5. *Розанов В. Я.* Динамика метаболизма тиамина, его биологическое значение и зависимость от функций пищеварительной системы // Тиамин. Обмен, механизм действия. — М.: Наука, 1978. — С. 27—34.
6. *Петров С. А.* Регуляция тиамином и его метаболитами процессов образования и обмена аминокислот и кетокислот в организме // Автореф. докт. дисс. — Мн., 1992. — 32 с.
7. *Розанов А. Я.* Распад меченного тиамина в организме и выделение радиоактивной серы с мочой // Тезисы научной конф. по применению радиоактивных изотопов в эксперименте и клинике. — Одесса, 1954. — С. 34—35
8. *Островский Ю. М.* Активные центры и группировки в молекуле тиамина. — Мн.: Наука и техника, 1975. — 144 с.

О. А. Волков, М. Г. Магла, Е. А. Прутянова, С. А. Петров
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, г. Одесса, 65026, Украина, E-mail: sheephunter@rambler.ru

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИАМИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ

Резюме

Разработан спектрофотометрический экспресс-метод определения тиамина, тиаминпирофосфата (ТПФ) и продуктов их распада в ампулированных фармацевтических препаратах. Установлены различия в спектрах поглощения продуктов гидролиза и окисления тиамина, что позволяет использовать этот метод для тестирования тиаминсодержащих лечебных препаратов.

Ключевые слова: спектрофотометрия, тиамин, ТПФ, 4-метил-5β-оксиэтилтиазол, тиохром.

O. A. Volkov, M. G. Magla, Ye. A. Prutyanova, S. A. Petrov
Odessa Mechnikov National University, Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya, 2, Odessa, 65026, Ukraine,

SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR DETERMINATION OF THIAMINE AND ITS DERIVATIVES IN PHARMACEUTICAL PREPARATIONS

Summary

A spectrophotometric express method for determination of thiamine, thiamine pyrophosphate (TPP) and products of their decomposition in ampoulated pharmaceutical preparations has been developed. Certain differences in absorption spectra of products of thiamine hydrolysis and oxidation have been found. It allows using the method for testing of thiamine containing medical preparations.

Keywords: spectrophotometry, thiamine, TPP, 4-methyl-5β -oxyethylthiazole, thiochrome.

УДК 577.18+577.124+577.16]-092.9

О. В. Запорожченко [1], доц., **Л. М. Карпов** [1], проф., **С. Г. Коломійчук** [2], наук. співроб., **О. О. Кокошкіна** [1], асист., **А. В. Сорокін** [1], доц., **О. І. Станєв** [1], студ.

[1] Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедри біохімії та фізіології людини і тварин, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна,

[2] Інститут очних хвороб та тканинної терапії ім. В. П. Філатова АМН України, лабораторія біохімії, Французський бульвар, 49/51, Одеса, 65061, Україна, sana33@ukr.net

ВМІСТ ЛАКТАТУ І ПІРУВАТУ В ОРГАНАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ІНГІБУВАННЯ БІОСИНТЕЗУ БІЛКА І ВВЕДЕННЯ ТВАРИНАМ ПОЛІВІТАМІНІВ

Визначали вміст лактату і пірувату, співвідношення лактату та пірувату, а також нефосфорильованих окиснених і відновлених нікотинамідних коферментів в органах щурів за умов інгібування біосинтезу білка. Встановлено, що при дії антибіотиків (хлорамфеніколу, актиноміцину) вміст лактату і пірувату в різній мірі змінюється в досліджуваних органах щурів, а співвідношення вільних НАД/НАДН зменшується. Введення полівітамінного препарату сприяє корекції зазначених змін.

Ключові слова: біосинтез білка, лактат, піруват, вітаміни.

Однією з важливих задач сучасної біології є з'ясування механізмів регуляції синтезу білка в нормі та при патологічних станах. Одним із шляхів з'ясування механізмів синтезу білків у клітинах є використання препаратів, що його стимулюють або інгібують. У лабораторній практиці досить часто застосовують хлорамфенікол і актиноміцин як специфічні інгібітори біосинтезу білка. Їх використовують для вивчення впливу порушеного синтезу білка на інші ланки метаболізму, в тому числі і на обмін енергії [1, 2, 3].

Відомо, що стан енергетичного метаболізму залежить не тільки від загального вмісту нікотинамідних коферментів у клітині, а й від співвідношення їх вільних форм в окремих компартментах [4, 5]. Окисно-відновний стан нікотинамідних коферментів відіграє важливу роль у клітинному метаболізмі, оскільки співвідношення вільних НАД/НАДН пар визначає швидкість і напрям зворотних реакцій оксидоредукції і контролює функціонування загальних метаболічних шляхів у клітині [5]. Отже, від зміни цього співвідношення залежить збільшення ролі анаеробного шляху окиснення глюкози, де лактат є кінцевим продуктом гліколізу, чи аеробного обміну, в якому лактат після перетворення в піруват окиснюється у циклі трикарбонових кислот [6, 7]. В організмі тварин піруват є одним з центральних метаболітів, що беруть участь у багатьох ферментативних реакціях [7, 8].

© О. В. Запорожченко, Л. М. Карпов, С. Г. Коломійчук, О. О. Кокошкіна, А. В. Сорокін, О. І. Станєв, 2004

Встановлена залежність між наявністю аліментарного і метаболічного дефіциту вітамінів. Виявлено, що при аліментарному дефіциті вітаміну B_2 спостерігається зниження вмісту його коферментних форм, аскорбату і посилення інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів. Крім того, вітаміни відіграють важливу роль у підтримці імунобіологічних реакцій організму. Виявлена залежність між забезпеченістю організму каротином, вітамінами Е, С, тіаміном, рибофлавіном і ніацином і розвитком патологічних станів [9, 10, 11]. Вони здатні також пом'якшувати або усувати побічну дію антибіотиків, сульфаніламідів та інших медикаментозних засобів [12, 13].

Метою дослідження було вивчення впливу вітамінів групи В на вміст лактату і пірувату, співвідношення лактату до пірувату та НАД/НАДН у цитоплазмі за умов інгібування біосинтезу білка.

Матеріали і методи

В дослідженнях використовували пацюків-самців лінії Вістар вагою 180—200 г. Для моделювання інгібування біосинтезу білка тваринам внутрішньочеревинно (в/ч) за 24 і 48 годин до забою одноразово вводили хлорамфенікол (ХА) у дозі 8 мг/100 г. маси і актиноміцин (АМ) в дозі 1 мг/кг. Вітамінний препарат (ВП) вводили щурам внутрішньом'язово за 24 і 3 години до введення антибіотиків. При цьому дози вітамінів (мкмоль/кг маси) були такими: тіаміну (B_1) — 35,6, флавінмононуклеотиду (ФМН) — 8,7, пантотенату — Ca^{2+} (B_3) — 104,9, піридоксину (B_6) — 59,5, ліпоєвої кислоти — 19,4, нікотинаміду — 327,5. Тварин у дослід брали через 72 години після першого введення ВП. Контрольні тварини отримували внутрішньом'язово відповідний об'єм фізіологічного розчину (ФР).

Вміст лактату в тканинах визначали за методом Хохорста [14], а піруват — методом Цока і Лампрехта [14].

Принцип методу полягає у визначенні екстинкції досліджуваного розчину, яка змінюється в процесі реакцій між лактатом та НАД, а також між піруватом та НАДН у присутності ферменту лактатдегідрогенази (ЛДГ). Внаслідок першої реакції за рахунок ферментативного окиснення лактату відбувається відновлення НАД, що має максимум поглинання при $\lambda = 340$ нм. У випадку пірувату відбувається його відновлення за рахунок окиснення НАДН, який реєструється спектрофотометрично при $\lambda = 340$ нм. Відношення цитоплазматичних НАД/НАДН визначали за формулою [15]:

$$\text{НАД/НАДН} = K^{1}_{\text{лдг}} \cdot \frac{[\textit{піруват}]}{[\textit{лактат}]},$$

де $K_{лдг}=1{,}11 \cdot 10^{-4}$ — константа рівноваги лактатдегідрогеназної реакції.

Результати оцінювали за загальноприйнятим t-критерієм Стьюдента [16].

Результати досліджень

Результати визначення вмісту лактату та пірувату, співвідношення лактат/піруват, а також співвідношення цитоплазматичних нефосфорильованих окиснених нікотинамідних коферментів до відновлених представлено у таблиці.

З'ясувалося, що за введення антибіотиків спостерігаються зміни вмісту лактату та пірувату в печінці, мозку, нирках та серці. Після введення АМ у серці вірогідно збільшувався вміст лактату — до 145 % у порівнянні з контролем.

Застосування полівітамінного препарату за умов введення антибіотиків сприяло, з одного боку, різноспрямованій зміні вмісту лактату в залежності від типу тканини, а з іншого боку — підвищенню вмісту пірувату в усіх досліджуваних органах.

За введення ВП та ХА спостерігалося вірогідне підвищення рівня пірувату у порівнянні з контролем та групою тварин, які отримували ХА. За цих умов у мозку зростання рівня пірувату складало 142,9 та 150,5 %, а у нирках — 157,3 та 176,7 % відповідно.

При введенні ВП та АМ у печінці і нирках спостерігалися аналогічні зміни. Так, у печінці рівень пірувату сягав 152,6 % по відношенню до групи тварин, що отримували АМ. У нирках за цих умов вміст лактату складав 158 %, а пірувату — 143,6 % по відношенню до контролю і 161,4 % відносно групи тварин, які отримували АМ.

За сумісного введення ВП, ХА та АМ спостерігалося вірогідне підвищення вмісту пірувату в нирках до 145,4 % відносно контролю, а у серці до 136,3 % — по відношенню до групи тварин, що отримували ХА та АМ.

При оцінці співвідношення лактат/піруват було з'ясовано, що за введення ХА і АМ цей показник підвищувався в усіх досліджуваних органах щодо контролю (таблиця). Подібний ефект спостерігався також за дії інших антибіотиків [17]. Виявлене збільшення співвідношення лактату до пірувату свідчить про активацію анаеробних процесів у гліколізі за дії антибіотиків. Введення полівітамінного препарату сприяло корекції зазначених змін у співвідношенні лактату до пірувату.

Аналіз співвідношення вільних НАД/НАДН у досліджуваних тканинах за умов введення тваринам антибіотиків виявив зменшення співвідношення цитоплазматичних окиснених нікотинамідних коферментів до відновлених порівняно з контролем. Слід зазначити, що навіть невеликі зміни співвідношення вільних цитоплазматичних нікотинамідних коферментів НАД/НАДН можуть викликати зміну напряму потоку вуглецю як в бік гліколізу, так і в бік глюконеогенезу. Виявлене нами підвищення відновленості вільних НАД в тканинах щурів при моделюванні пригніченого біосинтезу білка може бути тим пусковим механізмом, що зумовлює, при накопиченні НАДН, інгібування процесів гліколізу і активацію глюконеогенезу [18, 19, 20]. Застосування полівітамінного препарату сприяло нормалізації або підвищенню співвідношення окиснених та відновлених нікотинамідних коферментів у групі тварин, які отримували антибіотики.

Таблиця

Вміст лактату і пірувату(мкмоль/г), співвідношення лактат/піруват та НАД/НАДН в органах щурів за умов інгібування біосинтезу білка, n = 7

Органи	Показники	Контроль (ін'єкції ФР)	ХА (ін'єкції хлорамфеніколу)	АМ (ін'єкції актиноміцину)	ХА+АМ	ВП +ХА	ВП +АМ	ВП +ХА +АМ
Печінка	ЛАКТАТ	2,169 ± 0,371	1,973 ± 0,246	1,907± 0,244	2,109 ± 0,302	2,248 ± 0,324	1,606 ± 0,245	1,802 ± 0,158
	ПІРУВАТ	0,238 ± 0,038	0,213 ± 0,029	0,192± 0,021	0,205 ± 0,026	0,273 ± 0,035	0,293 ± 0,034 **	0,197 ± 0,018
	Л/П	9,114	9,263	9,932	10,288	8,234	5,481	9,147
	НАД/НАДН	98,854	97,259	90,704	87,570	109,407	164,361	98,489
Мозок	ЛАКТАТ	1,883 ± 0,209	1,827 ± 0,111	2,047± 0,159	1,945 ± 0,199	1,895 ± 0,168	2,157 ± 0,288	2,049 ± 0,211
	ПІРУВАТ	0,317 ± 0,034	0,301 ± 0,0195	0,271± 0,028	0,267 ± 0,024	0,453 ±0,0414 * **	0,305 ± 0,038	0,32 ± 0,039
	Л/П	5,940	6,070	7,554	7,285	4,183	7,072	6,403
	НАД/НАДН	151,665	148,424	119,269	123,671	215,360	127,387	140,697
Нирки	ЛАКТАТ	1,576 ± 0,086	1,605 ± 0,168	1,612± 0,222	2,16 ± 0,312	1,788 ± 0,289	2,49 ± 0,342 *	1,803 ± 0,220
	ПІРУВАТ	0,227± 0,017	0,202 ± 0,015	0,183± 0,013	0,241 ± 0,024	0,357± 0,047 * **	0,326 ± 0,036* **	0,33 ± 0,037 *
	Л/П	6,943	7,946	8,809	8,963	5,008	7,638	5,464
	НАД/НАДН	129,762	113,384	102,273	100,517	179,878	117,949	164,890

Закінчення таблиці

Органи	Показники	Контроль (ін'єкції ФР)	ХА (ін'єкції хлорамфеніколу)	АМ (ін'єкції актиноміцину)	ХА+АМ	ВП +ХА	ВП +АМ	ВП +ХА +АМ
Серце	ЛАКТАТ	4,312 ± 0,313	5.211 ± 0,359	6.254 ± 0,523 *	5,119 ± 0,321	4,607± 0,325	5,085 ± 0,400	4,400 ± 0,398
	ПІРУВАТ	0,527 ± 0,046	0.552 ± 0,031	0.609 ± 0,044	0,474 ± 0,041	0.596 ± 0,041	0.647 ± 0.043	0.646 ± 0.043 **
	Л/П	8,182	9,440	10,269	10,800	7,730	7,860	6,827
	НАД/НАДН	110,105	95,432	87,728	83,420	116,548	114,628	131,969

Примітки: * — різниця з контролем вірогідна ($p<0,05$);

** — різниця між групами тварин, які до введення антибіотиків отримували або не отримували ВП, вірогідна ($p<0,05$).

Висновки

1. Після парантерального введення ХА і АМ у різних тканинах щурів з неоднаковою інтенсивністю змінюється вміст лактату та пірувату. Виявлений перерозподіл метаболітів НАД — дегідрогеназних систем, а саме лактату та пірувату, зумовлює підвищення співвідношення лактат/піруват у досліджуваних тканинах.
2. Введення антибіотиків хлорамфеніколу та актиноміцину викликає зменшення співвідношення вільних НАД/НАДН в цитоплазмі досліджуваних тканин.
3. Введення полівітамінів групи В сприяє корекції зазначених змін.

Література

1. *Сазыкина Ю. О.* Антибиотики как ингибиторы биохимических процессов. — М.: Наука, 1968. — С. 106—154.
2. *Kawashima Tsuyoshi, Nakazawa Tohru.* Transient increase in mitochondrial protein synthesis of starfish embrio before gostrulation // Zool. Sci. — 1989. — V. 6, № 4. — P. 800—804.
3. *Neetan M., Degani H.* Early estrogen - induced metabolic changes and their inhibition by actinomycin D and cycloheximide in human breast cancer cells: 31P and 13C NMR studies // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1989. — V. 6, № 14. — P. 5585—5589.
4. *Леутский К. М.* Никотиновая кислота. Витамин РР. Львов: Изд-во Львовского ун-та, 1972. — С. 18—47, 181.
5. *Великий Н. Н., Пархомец П. К.* Роль окислительно — восстановительного состояния никотинамидных коферментов в регуляции клеточного метаболизма // Витамины. — 1976. — Вып. IX. — С. 3—15.
6. *Наградова Н. К.* Белок-белковые взаимодействия в функционировании НАД+-зависимых дегидрогеназ. — М: Наука, 1990. — С. 34—35.
7. *Островский Ю. М., Величко М. Г., Якубчик Т. Н.* Пируват и лактат в животном организме. — Минск: Наука и техника, 1984. — С. 6—24.
8. *Методы* биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. — 272 с.
9. *Rao P. V., Bhat K. S.* Influence of dietary riboflavin deficiency on lenticular glutathione redox cycle, lipid peroxidation and free radical scavengers in the rat // J. Clin. Biochem. And Nutr. — 1989. — V. 6, № 3. — P. 195—204.
10. *Leske M. C., Chylack L. T., Wu S. - Y.* The Lens Opacities Case Control Study // Arch. Ophthalmol. — 1991. — V. 109, № 2. — P. 244—251.
11. *Спиричев В. В.* Актуальные проблемы витаминологии // Тез. докл. Всесоюзн. конф. — М., 1991. — Т. 2. — С. 33—35.
12. *Авакумов В. И., Ковлер М. А.* Лекарственные средства метаболической терапии на основе витаминов и коферментов. Тез. докл. Всесоюзн. конф. "Клиническая витаминология". — М., 1991. — 241 с.
13. *Подорожный П. Г., Томашевский Я. И.* Клиническая витаминология. — М.: Мир, 1977. — С. 3—8.
14. *Bergmeyr H. U.* Methoden der enzymatischen Analyse / Herausgegeben von H. U. Bergmeyr. — Berlin, 1970. — S. 1536—1539.
15. *Великий Н. Н., Пархомец П. К.* Роль окислительно — восстановительного состояния никотинамидных коферментов в регуляции клеточного метаболизма // Витамины, — Вып. IX. — К.: 1976. — С. 3—4, 10.
16. *Кокунин В. А.* Статистическая обработка данных при малом числе опытов // Укр. биохим. журн. — 1975. — Т. 47, № 6. — С. 776—791.
17. *Хоменко А. Г., Высочина И. В., Ефимова Л. Н., Кузьмина Н. В.* Компоненты гликолиза и активность некоторых ферментов углеводного обмена в крови при длительном действии рифампицина и изониазида // Бюл. экспер. биол. и мед. — 1982. — № 4. — С. 54—57.

18. *Greenbaum A. L., Gumaa K. A., Mclean P.* The distribution of hepatic metabolites and the control of the pathways of carbohydrate metabolism in animals of different dietary and hormonal status. // Arch. Biochem. and Biophys. — 1971. — 143, № 2. — P. 617—663.
19. *Великий Н. Н., Пархомец П. К., Симонова Н. Я.* и др. Гипогликемический эффект никотинамида при аллоксановом диабете у крыс // Пробл. эндокринологии. — 1978. — 24, № 1. — С. 83—88.
20. *Великий Н. Н., Кучмеровская Т. М., Пархомец П. К.* Окислительно — востановительное состояние свободных никотинамидных коферментов и синтез фосфоенолпирувата в печени крыс и морских свинок // Укр. биохим. журн. — 1981. — Т. 53, № 1. — С. 60—66.

О. В. Запорожченко, Л. М. Карпов, С. Г. Коломийчук, О. А. Кокошкина, А. В. Сорокин, А. И. Станев
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедры биохимии и физиологии человека и животных,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина, sana33@ukr.net

Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова АМН Украины, лаборатория биохимии,
Французский бульвар, 49/51, Одесса, 65061, Украина, sana33@ukr.net

СОДЕРЖАНИЕ ЛАКТАТА И ПИРУВАТА В ОРГАНАХ КРЫС ПРИ ИНГИБИРОВАНИИ БИОСИНТЕЗА БЕЛКА И ПРИ ВВЕДЕНИИ ПОЛИВИТАМИНОВ

Резюме

Определяли содержание лактата и пирувата, соотношение лактата к пирувату, а также НАД к НАДН в органах крыс при ингибировании биосинтеза белка. Установлено, что при действии антибиотиков (хлорамфеникола, актиномицина) содержание лактата и пирувата изменяется в исследуемых органах крыс в различной степени, а соотношение свободных НАД/НАДН уменьшается. Введение поливитаминного препарата способствовало коррекции отмеченных изменений.

Ключевые слова: биосинтез белка, лактат, пируват, витамины.

A. V. Zaporozhchenko, L. M. Karpov, S. G. Kolomiychuk, O. A. Kokoshkina, A. V. Sorokin, A. I. Stanev
Odessa Mechnikov National University, Department of Biochemistry and Human and Animal Physiology,
Dvoryanska st.,2, 65026, Odessa, Ukraine

Filatov Institute of AMS of Ukraine, laboratory biochemistry,
49/51 Frantsuzky boulevard, 65061, Odessa, Ukraine, sana33@ukr.net

CONTENT OF LACTATE AND PYRUVATE IN ORGANS OF RATS AT PROTEIN BIOSYNTHESIS INHIBITION AND AT INJECTION OF THE POLIVITAMINS

Summary

It was determined the content of lactat and pyruvate, lactat/pyruvate ratio of free oxidited and reduced nicotinamide coenzymes NAD/NADH in organs of rats at protein

biosynthesis inhibition. It has been revealed that the content of lactate and pyruvate researched in rat organs changes to different degree at the effect of antibiotics (aktinomicin, chloramfenikol), and the ratio of free NAD/HADH decreases. Injection of the polivitamin complex promoted to correction of the noted changes.

Keywords: protein biosynthesis, lactate, pyruvate, vitamins.

УДК 577.616.038

Н. Л. Федорко, ст. викл., **С. А. Петров**, д-р біол. наук, проф.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра біохімії, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна e-mail: nfedorko@mail.ru

ВЗАЄМОДІЯ КОФЕРМЕНТІВ 2-ОКСОГЛУТАРАТДЕГІДРОГЕНАЗИ НА РІВНІ МУЛЬТИЕНЗИМНОГО КОМПЛЕКСУ ТА В МІТОХОНДРІЯХ ПЕЧІНКИ

Досліджено механізми коферментної регуляції мультиензимного 2-оксоглутаратдегідрогеназного комплексу. Показана стимулююча роль ліпоєвої кислоти і КоА на досліджуваний фермент у мітохондріях печінки. На рівні очищеного ферменту визначено різке стимулювання його активності в присутності п'яти функціонально пов'язаних коферментів.
Отримані дані можуть слугувати доказом існування реконструкції комплексу з коферментів та апоферментів.
Ключові слова: 2-оксоглутаратдегідрогеназа, коферменти, мітохондрії, мультиензимний комплекс.

Будова і механізм дії дегідрогеназ 2-оксокислот вивчалися багатьма дослідниками, але питання, які стосуються регуляції активності, біосинтезу і реконструкції цих ферментів, залишаються відкритими. Серед різноманітних механізмів регуляції активності поліферментних комплексів особливу увагу надають вітамінно-коферментній регуляції. На кафедрі біохімії Одеського національного університету ім. І. І. Мечникова в ряді досліджень [1—6] була показана стимуляція активності піруватдегідрогеназного (КФ 1.2.4.1) і 2-оксоглутаратдегідрогеназного (КФ 1.2.4.2) комплексів на рівні тканин і мітохондрій після парентерального введення функціонально пов'язаних вітамінів, а також після внесення відповідних коферментів в інкубаційне середовище.

Результати експериментів дозволили сформулювати гіпотезу про біосинтез субодиниць поліферментних ансамблів дегідрогеназ 2-оксокислот на рибосомах та їх реконструкцію на мітохондріальних мембранах за участю п'яти коферментів: ТПФ, НАД, ФАД, ліпоєвої кислоти і КоА [5]. Цей процес, спряжений з особливостями транспорту і метаболізму коферментних вітамінів, залежить від енергетичного обміну і від специфіки самої тканини.

В зв'язку з цим ми поставили завдання вивчити активність 2-оксоглутаратдегідрогенази в мітохондріях печінки щурів, а також на рівні частково очищеного ферменту за наявності *in vitro* окремих функціонально пов'язаних коферментів та їх суміші, збалансованій в "2-оксоглутаратдегідрогеназному" співвідношенні.

© Н. Л. Федорко, С. А. Петров, 2004

Матеріали і методи

Дослідження виконано на статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар вагою 180—200 г. Мітохондрії печінки виділяли за методом Джонсона і Ларді [9], після цього їх ресуспендували в 0,25 М сахарозі з доданням ізотонічного розчину калій фосфатного буфера із розрахунку: мітохондрії з 1 г тканини — в 4 мл. Вміст проб використовували для визначення білка методом Лоурі [10]. 0,4 мл суспензії вносили в інкубаційне середовище Габлера [11], що містило коферменти. Їх мілімолярні співвідношення в суміші були такими: ТПФ — 0,015, НАД+ — 0,6, КоА — 0,375, ліпоєва кислота (ЛК) — 0,225, ФМН — 0,075.

Інша група тварин була поділена на дві підгрупи: першій вводили ^{14}С-тіамін у дозі 1,5 мкмоль/кг, другій — ^{14}С-тіамін разом з функціонально пов'язаними вітамінами. Співвідношення вітамінів у введеній тваринам суміші в мкмоль/кг були такими: тіамін — 1,5, ФМН — 7,5, пантотенат-Са — 37,5, ЛК — 22,5, нікотинамід (НА) — 60. Підрахування радіоактивності здійснювали на радіаційному лічильнику "Протока" загальноприйнятим методом.

Активність ферменту виражали у мікромолях відновленого ферриціаніду на мітохондрії з 1 г тканини за 30 хв інкубації.

Виділення і очищення 2-оксоглутаратдегідрогенази провадили за методом Роше і Кейт [12]. Активність очищеного ферменту визначали тестом Варбурга [13], додаючи в середовище інкубації окремі коферменти, їх попарні поєднання та суміш всіх коферментів.

Результати досліджень

При доданні *in vitro* до мітохондрій окремих коферментів і їх суміші в співвідношенні, що характерне для дегідрогеназ 2-оксокислот, ми визначили, що виражений стимулюючий ефект на 2-оксоглутаратдегідрогеназний комплекс (2-ОГДК) спостерігався при доданні КоА і ЛК — на 77 % та 23 % відповідно, а суміш коферментів збільшувала активність ферменту майже в 2 рази. ТПФ, НАД і ФМН не впливали на 2-оксоглутаратдегідрогеназну активність в мітохондріях печінки, що, очевидно, можна пояснити досить міцним зв'язком цих коферментів з відповідними апоферментами, а також їх високим вмістом у мітохондріях. Необхідно зазначити, що як 2-ОГДК, так і ПДК потребують для реконструкції та реалізації дії однакових коферментів, а також мають дуже подібні апоферменти, що передбачає факт конкуренції коферментів на окремих стадіях окиснення 2-оксокислот (рис. 1).

За виділення ферментного комплексу із мітохондрій визначали його активність та вміст у ньому мічених метаболітів тіаміну на окремих етапах очистки. Активність 2-ОГДК після введення тваринам ^{14}С-тіаміну збільшувалася по мірі його очищення: у субкомплексі (ПДК + 2-ОГДК) — на 210 %, а в очищеному 2-ОГДК — на 328 % у порівнянні з мітохондріальною фракцією (рис. 2).

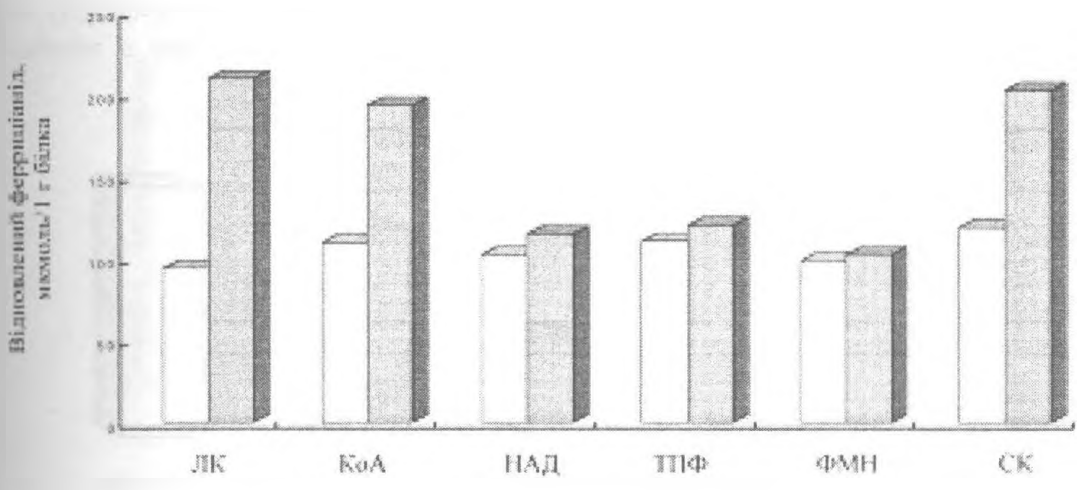


Рис. 1. Окиснення α-кетоглутарату мітохондріями з 1 г печінки статевозрілих щурів за наявності коферментів *in vitro*:
ЛК — ліпоєва кислота, СК — суміш коферментів, □ — контроль, □ — дослід

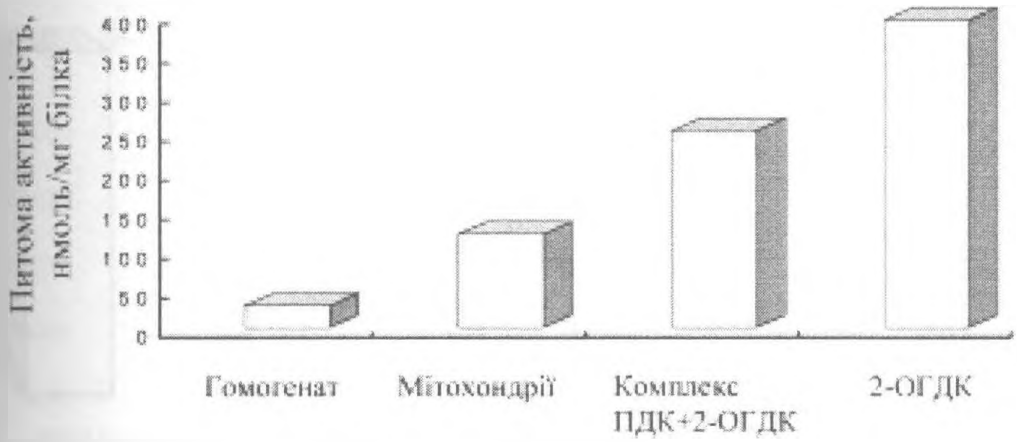


Рис. 2. Активність 2-ОГДК після внутрішньом'язового введення щурам ^{14}С-тіаміну в дозі 1,5 мкмоль/кг

Встановлено синхронне збільшення вмісту мічених метаболітів тіаміну в розрахунку на 1 мг білка по мірі очищення ферментного комплексу. Так, у субкомплексі (ПДК + 2-ОГДК) вміст мічених метаболітів тіаміну був на 208 %, а в очищеному 2-ОГДК — на 250 % більшим у порівнянні з мітохондріальною фракцією (рис. 3).

Після введення другій групі тварин ^{14}С-тіаміну сумісно з функціонально пов'язаними вітамінами ми також констатували збільшення активності 2-ОГДК в процесі виділення ферментного комплексу. В субкомплексі (ПДК + 2-ОГДК) і в очищеному 2-ОГДК активність була вищою на 209 % і 257 % відповідно порівняно з мітохондріальною фракцією (рис. 4). Сумарний вміст мічених метаболітів тіаміну

при цьому також збільшувався: у субкомплексі (ПДК + 2-ОГДК) — на 166 %, а в очищеному 2-ОГДК — на 222 % порівняно з мітохондріальною фракцією (рис. 5).

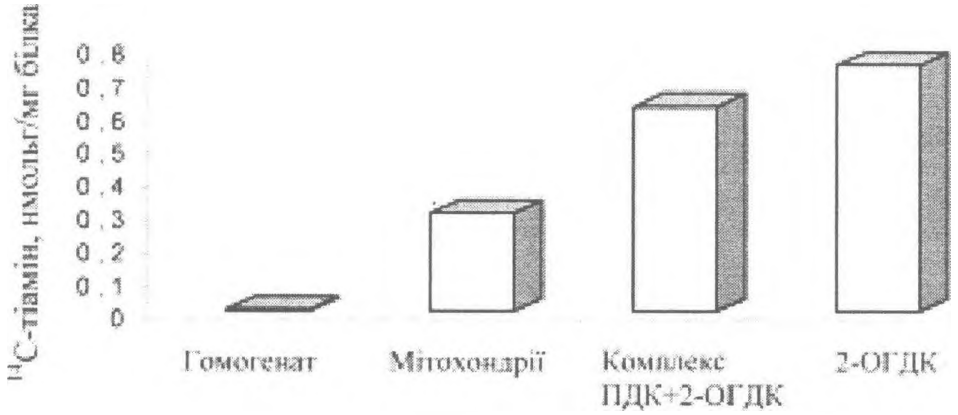


Рис. 3. Вміст мічених метаболітів тіаміну в мітохондріях та частково очищеному 2-ОГДК після внутрішньом'язового введення щурам ^{14}C-тіаміну в дозі 1,5 мкмоль/кг

Рис. 4. Активність 2-ОГДК після внутрішньом'язового введення щурам ^{14}C-тіаміну сумісно з функціонально пов'заними вітамінами

Таким чином, дані цього експерименту відзеркалюють факт зростання питомої активності 2-оксоглутаратдегідрогенази паралельно зі збільшенням вмісту суми мічених метаболітів тіаміну по мірі виділення і очищення ферментного комплексу як після введення міченого тіаміну окремо, так і після сумісного його введення з функціонально пов'язаними вітамінами.

Важливо зазначити, що за введення ^{14}C-тіаміну сумісно з функціонально пов'язаними вітамінами як вміст мітки, так і рівень 2-оксоглутаратдегідрогеназної активності по мірі очищення ферменту зростали більш помітно, ніж у випадку введення одного ^{14}C-тіаміну.

Рис. 5. Вміст мічених метаболітів тіаміну в мітохондріях , а також в частково очищеному 2-ОГДК після внутрішньом'язового введення щурам ^{14}C-тіаміну сумісно з функціонально пов'заними вітамінами

Було з'ясовано вплив кожного з досліджуваних коферментів на активність очищеного 2-ОГДК (рис. 6).

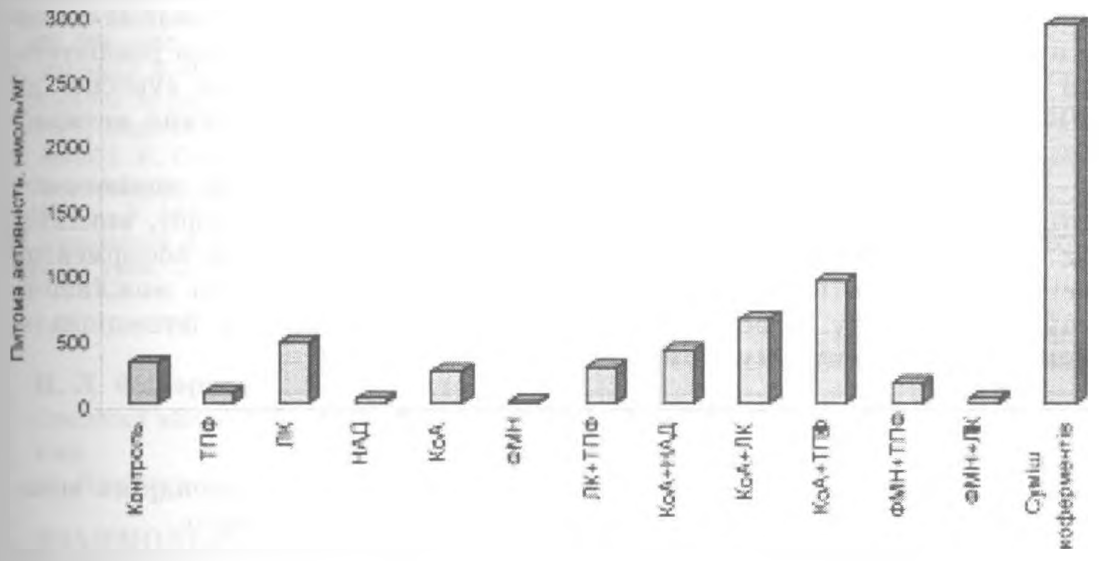


Рис. 6. Активність 2-ОГДК, виділенного з печінки дорослих щурів, після додання коферментів, окремих їх поєднань та загальної суміші *in vitro*

Додання *in vitro* окремих коферментів у середовище інкубації призводило до помітного збільшення ферментативної активності тільки у випадку ЛК (на 150 %), а ТПФ, НАД і ФМН навіть пригнічували активність ферменту.

При доданні в середовище інкубації коферментів попарно у різних варіантах найбільш ефективними комбінаціями були: КоА+ТПФ, КоА+ЛК, КоА+НАД. В цих випадках збільшення активності ферменту відносно контролю відповідно складало: 304 %, 208 % і 130 %.

Поєднання ФМН з ТПФ та ФМН з ЛК пригнічували активність ферменту на 52 % і 11 % відповідно.

Суміш коферментів, доданих у співвідношенні, властивому для дегідрогеназ 2-оксокислот, збільшувала активність 2-ОГДК більш ніж у 10 разів.

Отримані дані відзеркалюють, на наш погляд, різноспрямованість дії окремих коферментів на активність очищеного ферментного комплексу і можуть свідчити про часткову втрату окремих коферментів по ходу виділення ферментного комплексу. Інші кофермети — такі як ТПФ, НАД, ФАД — міцно зв'язані з субодиницями ферментного комплексу і додаткове додання їх до комплексу може призводити до дисбалансу коферментної регуляції і в результаті до зниження активності 2-ОГДК.

Особливої уваги заслуговує ЛК, додання якої у середовище стимулює активність ферменту. Останнє не можна пояснювати лише компенсацією можливих втрат коферменту за виділення ферментного комплексу. Більш істотним є те, що специфічне розташування ЛК у комплексі є надзвичайно важливим для функціонування трансацетилазного і ліпоїлдегідрогеназного компонентів. При цьому ЛК відіграє ключову роль у коферментному типі регулювання досліджуваного мультиензимного комплексу. Очевидно, ця роль реалізується на рівні трансацетилазного компоненту, оскільки за сумісної дії ЛК і КоА спостерігається більш виразний ефект збільшення активності ферментного комплексу.

Суміш всіх функціонально пов'язаних коферментів, що додаються у співвідношеннях, характерних для дегідрогеназ 2-оксокислот, викликала найбільший ефект. Цей факт свідчить не тільки про коферментну регуляцію мультиензимного комплексу, але й вказує на можливість сприяння з боку коферментів реасоціації субодиниць у функціональному поліферментному комплексі.

Висновки:

1. Стимулюючий ефект на активність 2-ОГДК у мітохондріях виявляли КоА, ЛК та суміш досліджуваних коферментів.
2. На рівні частково очищеного 2-ОГДК виявляється багатократний стимулюючий ефект суміші коферментів і менш істотне стимулювання за наявності у середовищі ЛК та двохкомпонентних добавок, що містять ЛК чи КоА.
3. Отримані дані свідчать про існування феномену реконструкції мультиензимного 2-ОГДК та про участь у цьому процесі функціонально пов'язаних коферментів.

Література

1. *Дьяченко Л. Ф.* Онтогенетические особенности окисления пирувата митохондриями при витаминной и субстратно-гормональной индукции: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04 / Одесский государственный университет им. И. И. Мечникова. — Одесса, 1968. — 21 с.
2. *Новикова З. Ф.* Влияние функционально связанных витаминов на динамику окисления α-кетокислот митохондриями печени крыс: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04 / Одесский государственный университет им. И. И. Мечникова. — Одесса, 1972. — 19 с.
3. *Петров С. А.* Особенности взаимодействия функционально связанных витаминов в организме мидий, кефали и крыс: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04 / Белорусский государственный университет. — Минск, 1979. — 23 с.
4. *Ву Ван Ань.* Взаимодействие коферментных пируватдегидрогеназе витаминов в животном организме: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04 / Одесский государственный университет им. И. И. Мечникова. — Одесса, 1971. — 22 с.
5. *Розанов А. Я.* Локалізація біосинтезу субодиниць дегідрогеназ α-кетокислот у гепатоцитах та перерозподіл їх з коферментами в мітохондріях // V Укр. біохім. з'їзд (м. Івано-Франківськ, вересень 1987). — Київ, 1987. — С. 135.
6. *Карпов Л. М., Полеся Т. Л.* Действие функционально связанных витаминов и их коферментных форм на активность дегидрогеназ 2-оксокислот в органах мышей // Укр. биохим. журн. — 1989. — Т. 61, № 4. — С. 82—87.
7. *Evidence* for existence of tissue-specific regulation of the mammalian pyruvate dehydrogenase complex / Bowker-Kinley M. M., Davis W. I., Wu P. et al. // Biochem. J. — 1998. — V. 329, № 1. — P. 191—196.
8. *Formation* of functional heterodimers by isozymes 1 and 2 of pyruvate dehydrogenase kinase / Bulatnikov I., Popov K. M. // Biochem. Biophys. Acta. — 2003. — V. 1645, № 2. — P. 183—192.
9. *Jonson D., Lardy H.* Methods in enzymology // New York. — 167. — V. 10. — P. 94—102.
10. *Lowry O.* et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. // J. Biol. Chem. — 193, 265, 1951.
11. *Kiessling K.-H., Lundquist C. G.* Thiamin diphosphate in growing tissues. III. Pyruvate oxidation in liver mitochondria from young an from thiamin diphosphate defficient adult rats // Experim. Cell. Res. — 1962. — V. 26, № 1. — P. 189—197.
12. *Roche I. E., Cate R. J.* Purification of porcine liver pyruvate dehydrogenase complex and characterization of its catalitic and regulatory properties // Arch. of Biochem. and Biophys. — 1977. — V. 183. — P. 664—667.
13. *Покровский А. А., Арчаков А. И.* // Современные методы в биохимии. — М.: Медицина. — 1968. — С. 5.

Н. Л. Федорко, С. А. Петров

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

ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КОФЕРМЕНТОВ 2-ОКСОГЛУТАРАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ НА УРОВНЕ МУЛЬТИЭНЗИМНОГО КОМПЛЕКСА И В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ

Резюме

В работе исследованы механизмы коферментной регуляции мультиэнзимного 2-оксоглутаратдегидрогеназного комплекса. Показана стимулирующая роль липоевой кислоты и КоА на исследуемый фермент в митохондриях печени. На уровне

очищенного фермента установлено резкое стимулирование его активности в при сутствии пяти функционально связанных коферментов.

Полученные данные могут служить свидетельством существования феномен реконструкции комплекса из коферментов и апоферментов.

Ключевые слова: 2-оксоглутаратдегидрогеназа, коферменты, митохондрии, мульти тиэнзимный комплекс.

N. L. Fedorko, S. A. Petrov
Odessa Mechnikov National University, Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya st., 2, 65026, Odessa, Ukraine

2-OXOGLUTARATE COENZYMES INTERACTION ON THE MULTIENZYME COMPLEX LEVEL AND IN THE LIVER MITOCHONDRIA

Summary

2-oxoglutarate dehydrogenase multienzyme complex regulation mechanisms hav been studied. The lipoic acid and the CoA stimulation role on the studied enzyme in th liver mitochondria was shown. The strong activity stimulation of enzyme in the presen of five functionally bounded coenzymes was established.

The obtained data may be the evidence of the complex reconstruction phenomen from the coenzymes and the apoenzyme proteins.

Keywords: 2-oxoglutarate dehydrogenase, coenzymes, mitochondria, multienzym complex.

УДК 582.26(262.5)(26.04)

В. П. Герасимюк, канд. біол. наук, доц.
Одеський національний університет, кафедра ботаніки,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна
e-mail: gerasimjuk@mail.ru

ЛЬОДОВІ ВОДОРОСТІ ОДЕСЬКОЇ ЗАТОКИ ЧОРНОГО МОРЯ

Наведені відомості про 28 видів льодових водоростей Одеської затоки Чорного моря, які відносяться до трьох відділів: синьо-зелених (2 види), діатомових (25 видів) та зелених (1 вид). Більша частина їх мали хроматофори бурого кольору і активно рухалися. В шарі льоду були знайдені як бентосні (78,6 %), так і планктонні (21,4 %) форми. Серед водоростей до одиноких належали 17 видів (60,7 %), до колоніальних — 8 (28,6 %), до багатоклітинних — 3 види (10,7 %).
Ключові слова: лід, водорості, Одеська затока.

Морський лід — це своєрідний біотоп, для якого характерна тверда поверхня, яка знаходиться у контактній зоні "море — берег — повітря". У зв'язку з цим він має унікальні особливості, які відрізняють його від морської води. Лід, як правило, має менше солі, ніж морська вода. При формуванні морського льоду в середину кристалів, які створюються з прісної води, потрапляють окремі краплі морської води ("розсолу"), які згодом в силу ваги збігають донизу, і лід стає більш прісним. В структурі льоду з'являється пористість, яка обумовлена наявністю пухирців повітря [9]. Загальновідомо, що тала вода з "розсолу" знаходиться в квазікристалічному стані і тому є сильним біологічним стимулятором [4].

Морський лід має наступні риси: відокремленість простору між окремими кристалами льоду, високу прозорість, яка сприяє проникненню сонячних променів, великий вміст кисню та органічних речовин, сталий термічний режим, незалежний від коливань температури навколишнього середовища. Внаслідок вищезазначених якостей лід є сприятливим середовищем, в якому існує цілий світ живих мікроскопічних істот (синьо-зелених, діатомових і зелених водоростей, морських грибів і мікроорганізмів). Основну роль серед них грають водорості і в першу чергу діатомові, які часто домінують по видовому складу, чисельності і біомасі. "Царством" діатомей можна назвати лід Антарктиди, де вони розвиваються в особливо великих кількостях.

Водорості, які живуть в товщі льоду, мають важливе значення для цього біотопу (створення органічних речовин, кисню, їжа для представників зоопланктону, утилізація неорганічного та органічного забруднень).

© В. П. Герасимюк, 2004

Вивчення морських льодових водоростей почалося порівняно недавно. Цій цікавій екологічній групі присвячені дослідження як вітчизняних [4, 6, 8], так і зарубіжних [10, 11] авторів. Значна увага у цих працях надається водоростям Арктики та Антарктики. Щодо вивчення кріофільних водоростей Чорного моря, то відомості про них зустрічаються дуже рідко та фрагментарно [3]. Водорості льоду Одеської затоки як самостійне угруповання організмів до останнього часу не вивчалися. Це пов'язано з тим, що лід в північно-західній частині Чорного моря утворюється лише в люті зими, а також з деякими іншими причинами методичного характеру.

Метою даної роботи є вивчення сучасного стану льодових водоростей Одеської затоки. У відповідності з метою були визначені наступні завдання:

1. Виявити видовий склад кріофільних водоростей Одеської затоки;
2. Проаналізувати сучасний екологічний стан водоростей льоду району дослідження.

Матеріал і методи дослідження

Проби льоду в Одеській затоці відбирали в грудні 2002 — лютому 2003 років на двох станціях: пляж "Дельфін" і біостанція ОНУ. Спочатку вирізали блоки льоду об'ємом 1 дм^3, з яких на різних рівнях відбирали проби, поміщали їх в скляні посудини та розтоплювали при кімнатній температурі. Потім воду, отриману з льоду, фільтрували через мембранні фільтри з діаметром пор 1,45 мкм. Для цього використовували обладнання для концентрування фітопланктону [1], яке складається з колби Бунзена, насоса Камовського та портативного приладу. Він має вигляд воронки з плексиглазу з місцем для розташування фільтрів. При вивченні льоду звертали увагу на колір, шаристість та структуру льоду. Для визначення кольору льоду використовували шкалу кольорів [2] шляхом порівняння з нею зразка льоду. Одночасно вимірювали температуру, pH і солоність морської води. Для більш детального аналізу з отриманого матеріалу готували постійні препарати за загальновизнаною методикою [7].

Кількісну обробку (визначення чисельності водоростей) мікрофітів провадили звичним розрахунковим методом [5] з використанням поршневої мірної піпетки та рахункових скелець.

Результати досліджень та їх аналіз

Одеська затока почала вкриватися льодом 25 грудня 2002 року, коли температура повітря знизилася до відмітки −11 °С. При цьому лід товстим шаром вкрив прибережне каміння, пірси і кромку води біля берега шириною 3 метри. Товщина льоду досягала 10 см. Лід складався з трьох шарів. Верхній та нижній шари були зернистими голубовато-блідносірого кольору, середній — гладкий прозорий блідносіруватого кольору.

В подальшому 14 лютого 2003 року зі зниженням температури повітря до −12 °С, а температури води до −1,2 °С море вкрилося льодом вздовж берега широкою смугою біля 200 м (рис. 1). Солоність води склала 15,67 ‰. 18 лютого 2003 р. смуга льоду збільшилася до 2 км, а 28 лютого море замерзло до лінії обрію. Товщина льоду біля берега досягала 50 см. Лід на морі тримався до 5 березня 2003 року, після чого був розбитий хвилями та винесений у відкрите море.

В результаті вивчення видового складу водоростей льоду було виявлено 28 видів, які відносяться до трьох відділів: *Cyanophyta, Bacillariophyta і Chlorophyta* (табл. 1).

Таблиця 1

Перелік видів водоростей льоду Одеської затоки

№№ пп	Таксон	Екологічні покажчики			Географічне розповсюдження водоростей
		Галобність	Ацидофільність	Сапробність	
	Відділ *Cyanophyta*				
	Клас *Hormogoniophyceae*				
	Порядок *Oscillatoriales*				
	Родина *Oscillatoriaceae*				
1	*Spirulina major* Kütz.	–	alkf		sh
2	*Lyngbya confervoides* Ag.	m	alkf		sh
	Відділ *Bacillariophyta*				
	Клас *Centrophyceae*				
	Порядок *Thalassiosirales*				
	Родина *Thalassiosiraceae*				
3	*Thalassiosira coronata* Pr.-Lavr.	m	alkf		b
4	*T. parva* Pr.-Lavr.	m	alkf		b
5	*Sceletonema costatum* (Grev.) Cl.	m	alkf	α	sh
	Родина *Stephanodiscaceae*				
6	*Cyclotella meneghiniana* Kütz.	gl	alkf	α	sh
	Порядок *Melosirales*				
	Родина *Melosiraceae*				
7	*Melosira moniliformis* (O. Müll.) Ag.	m	alkf	α	sh
	– *var. subglobosa* Grun.				
	Порядок *Coscinodiscales*				
	Родина *Coscinodiscaceae*				
8	*Coscinodiscus jonesianus* (Grev.) Ostf.	pg	alkf		b
	Клас *Pennatophyceae*				
	Порядок *Araphales*				
	Родина *Fragilariaceae*				
9	*Tabularia fasciculata* (Ag.) Williams et Round	m	i	α	sh
	Порядок *Raphales*				
	Родина *Naviculaceace*				
10	*Navicula directa* (W. Sm.) Ralfs	pg	alkf		a – b
11	*N. humerosa* Breb.	pg	alkf		b
12	*N. palpebralis* Breb.	pg	alkf		b

Закінчення таблиці 1

№ № пп	Таксон	Екологічні покажчики			Географічне розповсюдження водоростей
13	*N. pennata* A. S.	m	alkf		sh
	– *var. pontica* Mer.				
14	*N. ramosissima* (Ag.) Cl.	pg	alkf		b
15	*N. salinarum* Grun.	m	i	α	sh
16	*Diploneis chersonensis* (Grun.) Cl.	pg	alkf		b – t
	Родина *Achnanthaceae*				
17	*Cocconeis placentula* Ehr.	i	alkf	o	b
	– *var. euglypta* (Ehr.) Grun.				
18	*C. scutellum* Ehr.	pg	alkf	β	b
19	*Achnanthes brevipes* Ag.	pg	alkf	β	sh
	Родина *Rhoicospheniaceae*				
20	*Rhoicosphenia abbreviata* (Ag.) L. – B.	gl	alkf	β	sh
	Родина *Cymbellaceae*				
21	*Amphora caroliniana* Giffen	pg	alkf		b
22	*A. coffeaeformis* (Ag.) Kütz.	m	alkf	α	sh
23	*A. eunotia* Cl.	pg	alkf		b
24	*A. ovalis* Kütz.	i	alkf	β	b
	Родина *Entomoneidaceae*				
25	*Entomoneis paludosa* (W. Sm.) Reim.	pg	alkf		b
	Родина *Nitzschiaceae*				
26	*Nitzschia hungarica* Grun.	m	alkf	α	sh
27	*N. hybrida* Grun.	m	alkf	β	b
	Відділ *Chlorophyta*				
	Клас *Ulothrichophyceae*				
	Порядок *Ulothrichales*				
	Родина *Ulothrichaceae*				
28	*Ulothrix tenerrima* (Kütz.) Kütz.	gl	alkf	o – α	b

Умовні позначення:

pg — полігалоб, m — мезогалоб, gl — галофіл, i — індиферент, alkf — алкаліфіл, o — олігосапроб, β — бетамезосапроб, α — альфамезосапроб, sh — широкорозповсюджений, a — b — аркто-бореальний, b — бореальний, t — тропічний вид

По видовій різноманітності переважали діатомові водорості (25 видів), що складало 89,3 % від загальної кількості знайдених таксонів. Серед них на долю класу центричних діатомей припадає 6 видів або 21,4 %. Найбільш важливі з них були представлені видами *Sceletonema costatum і Thalassiosira parva*. Пенатні діатомеї по кількості видів займають провідне місце (21 вид або 75,0 %). Більша частина пір'ястих діатомей (20 видів) відноситься до порядку *Raphales*. Тільки один вид (*Tabularia fasciculata*) належить до порядку Araphales. Переважаючими серед шовних були *Navicula pennata var. pontica, N. directa і Nitzschia hybrida*.

Рис. 1. Лід в Одеській затоці: 1 — смуга льоду, яка утворилася біля біостанції ОНУ 14 лютого 2003 року; 2 — окремі крижини льоду

Друге місце належить відділу *Cyanophyta*. До нього відносяться 2 види: *Spirulina major* і *Lyngbya confervoides*, які разом складають 7,1 % від загальної кількості знайдених видів водоростей.

На останньому третьому місці знаходиться відділ Chlorophyta, який представлений всього одним видом *Ulothrix tenerrima* (3,6 %).

Водорості були живі, в доброму стані, мали хроматофори від жовтого до коричневого кольору.

Більша частина знайдених водоростей вільно рухалися (16 видів або 57,1 %), інші (12 видів або 42,9 %) відносяться до нерухомих. Серед водоростей до поодиноких форм належали 17 видів (60,7 %), до колоніальних — 8 (28,6 %), до багатоклітинних — 3 види (10,7 %).

У товщі льоду були знайдені водорості планктону (21,4 %) і бентосу (78,6 %). Бентосні види представлені обростаннями (32,1 %) і донними формами (56,5 %).

Відомо, що солоність води грає важливу роль у розвитку і розподілу водоростей. Встановлено, що в цілому в льоді переважали групи полігалобів (39,3 %) і мезогалобів (39,3 %). Першим двом групам поступалася група олігогалобів (17,8 %), яка складається з підгруп галофілів (10,7 %) і індиферентів (7,1 %). Серед водоростей було виявлено один вид *Spirulina major* (3,6 %) невідомої галобності. Такий розподіл екологічних груп у відношенні до галобності відповідає коливанням солоності (4—17 ‰) води, характерної для Одеської затоки.

По відношенню до pH серед водоростей переважали алкаліфіли, які були представлені 26 видами або 92,9 %, що відповідає pH води (8,1—8,5) Одеської затоки, визначеної хімічним шляхом. Їм значно поступається група індиферентів (7,1 %).

Зі знайдених видів 14 виявилися індикаторами сапробності води. Найкраще представлена в Одеській затоці група α-мезосапробів (50,0 %), що свідчить про значне органічне забруднення акваторії. На другому місці знаходиться група β-мезосапробів (35,7 %). Олігосапроби представлені одним видом, що складає 7,1 %. Ще один вид — *Ulothrix tenerrima* — виявлено в проміжній зоні, де індикація сапробності може бути від 0 до α.

Сапробний індекс кріофільних водоростей Одеської затоки в середньому складає 2,0, що характеризує цю водойму як β-мезосапробну.

В обростаннях льоду не виявлено специфічних для цього субстрату видів водоростей — вони зустрічаються й на інших субстратах.

Найсприятливішими для життєдіяльності водоростей є нижній та середній шари льоду, а у його верхній товщі водорості відсутні. Останнє, можливо, пов'язане з неоднорідністю структури льоду та певною послідовністю заселення його товщі. Водорості, знайдені в товщі води, прикріпляються спочатку до нижньої поверхні. Потім, по мірі утворення нового шару льоду, вони переміщуються з нижнього шару в середню частину.

Чисельність водоростей взимку в товщі льоду коливалася в межах від 21,79 до 30,32 млн кл/л. При цьому середня чисельність мікроскопічних водоростей склала 26,06 млн кл/л.

Висновки:

1. Серед водоростей льоду Одеської затоки знайдено 28 видів, які відносяться до 17 родів, 13 родин, 6 порядків, 4 класів і 3 відділів.
2. За видовою різноманітністю провідну роль в альгофлорі відіграють діатомові (25 видів) водорості.
3. Кріофільна флора водоростей є солонуватоводно-морською, алкаліфільною і α-мезосапробною.

Література

1. *Балонов И. М.* Портативный прибор для концентрирования фитопланктона // Тр. Ин-та биол. внутр. вод. — 1979. — № 44. — С. 66—69.
2. *Бондарцев А. С.* Шкала цветов. — М. — Л.: Изд-во АН СССР, 1954. — 27 с.
3. *Борисенко А.* О вмерзании в лед планктонных организмов в Одесском заливе // Природа. — 1937. — № 8. — С. 104.
4. *Буйницкий В. Х.* Органическая жизнь в морском льду // Вестник ЛГУ. — 1974. — Вып. 3, № 8. — С. 76—81.
5. *Водоросли*: Справочник / С. П. Вассер, Н. В. Кондратьева, Н. П. Масюк и др. — К.: Наук. думка, 1989. — 608 с.
6. *Герасимюк В. П., Гусляков М. О.* Діатомові водорості льоду Хаджибейського лиману // Тез. доп. IX з'їзду УБТ (м. Дніпропетровськ, травень 1992 р.). — Київ, 1992. — С. 365—366.
7. *Диатомовые* водоросли СССР. Ископаемые и современные. — Л.: Наука, 1974. — Т. 1. — 400 с.
8. *Усачев И. И.* Микрофлора полярных льдов // Труды Института океанологии. — 1949. — Т. 3. — С. 216—259.
9. *Черное* море / А. Вылканов, Х. Данов, Х. Маринов и др. Л.: Гидрометеоиздат, 1983. — 406 с.
10. *Medlin L., Priddle J.* Polar marine diatoms. - Cambrige: British Antarctic Survey, 1990. — 214 p.
11. *Roshet M., Legendre L., Demers S.* Accumulation of sea-ice microalgae to freezing temperature // Mar. Ecol. Progr. Ser. — 1985. — V. 24, № 1—2. — P. 245—249.

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

ЛЕДОВЫЕ ВОДОРОСЛИ ОДЕССКОГО ЗАЛИВА ЧЕРНОГО МОРЯ

Резюме

Приводятся сведения о 28 видах ледовых водорослей Одесского залива Черного моря, относящихся к трем отделам: диатомовым, сине-зеленым и зеленым. Большая часть водорослей имели хроматофоры бурой окраски и активно передвигались. Во льду были обнаружены как бентосные (78,6 %), так и планктонные (21,4 %) формы. Среди водорослей к одиночным формам принадлежали 17 видов (60,7 %), к колониальным — 8 (28,6 %), к многоклеточным — 3 вида (10,7 %).

Ключевые слова: лед, водоросли, Одесский залив.

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

SEA ICE ALGAE OF THE BLACK SEA ODESSA BAY

Summary

The information about 28 species of the Odessa bay sea ice algae, belonging to 3 divisions: diatoms, blue-green and green algae is presented. The main part of algae has brown-colored chromatophors and moves actively. There has been found both benthic (78,6 %) and plancton (21,4 %) forms in ice. The sea ice algae were represented by single (60,7 %), colonial (28,6 %), and polycell (10,7 %) organisms.

Keywords: ice, algae, the Odessa bay.

УДК 581.9(262.5)

А. І. Корзюков[1], канд. біол. наук, доцент, **Т. В. Васильєва**[2], канд. біол. наук, доцент, **С. Г. Коваленко**[2], канд. біол. наук, доцент
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
біологічний факультет, кафедри зоології [1] та ботаніки [2]
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ОСТРІВ ЗМІЇНИЙ ТА СУЧАСНИЙ СТАН ЙОГО ФЛОРИ

Коротко розглядається історія острову Зміїного та роботи зарубіжних і вітчизняних дослідників флори острова у XX ст. Аналізуються еколого-біологічні особливості рослин, занесених на острів в останні роки. Прогнозуються зміни у флорі, пов'язані з діяльністю людини.
Ключові слова: флора, острів Зміїний, Чорне море, занесені рослини.

Острівна флора є унікальним утворенням, характерні риси якого пов'язані із специфічністю умов існування рослин на обмеженому просторі серед солоних або прісних водойм. Як вказують дослідники, для багатьох островів, особливо у тропічній зоні земної кулі, візитною карткою флори є видовий і навіть родовий ендемізм [1]. Це є не тільки характерною ознакою певної флори, але й елементом, що допомагає скласти реальну картину процесів генезису флор. Для Північно-Західного Причорномор'я наявність островів не характерна. Тому вивчення флори о. Зміїного є необхідною умовою для розуміння процесів становлення і розвитку флори як у минулому, так і в майбутньому.

Метою наших досліджень був аналіз сучасної флори острова. До завдань роботи входили збір та визначення рослин у різні періоди року та аналіз їх еколого-біологічніх ознак у порівнянні з даними праць інших дослідників. Роботу по вивченню флори проводили з 1997 року. Аналізували життєві форми рослин за І. Г. Серебряковим [2], типи кореневої системи за А. О. Федоровим [3], ареали, фракції флори за В. В. Протопоповою [4], екобіоморфи за О. О. Лаптєвим [5], засоби розповсюдження плодів та насіння за З. Т. Артюшенко [6], господарську цінність рослин за [7, 8, 9]. Назви рослин уточнювали за S. Mosyakin & M. Fedoronchuk [10].

Серед адвентивної фракції ми розрізняли рослини за часом занесення (археофіти і кенофіти).

Острів Зміїний (рис. 1) розташований у Чорному морі напроти гирла Дунаю між 45°15'53'' північної широти та 30°14'41'' східної довготи. Площа острова 19,6 га, найбільша довжина з півночі на південь — 440 м, із заходу на схід — 414 м. Найбільша довжина з північного сходу на південний захід становить 662 м. Середня висота складає близько 21 м над рівнем моря. У невеличкого півострова, що представляє собою літоральну терасу, висота менша — 12 м.

© А. І. Корзюков, Т. В. Васильєва, С. Г. Коваленко, 2004

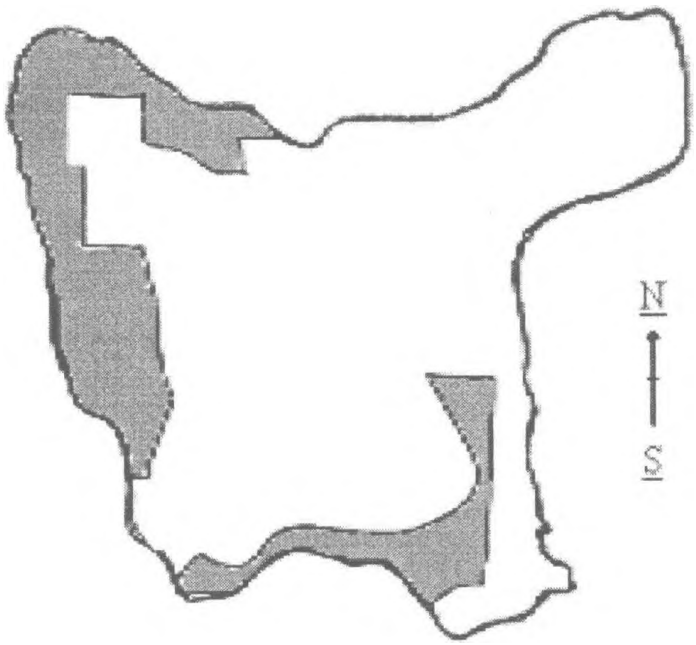


Рис. 1. Карта-схема острова Зміїний

На острові поширені дернові скелетні неповно розвинені та коротко профільні ґрунти на елювії-делювії конгломерато-брекчії. Характерною особливістю їх є високий вміст гумусу та поживних речовин, особливо фосфору.

У античні часи острів мав назву Leuke (білий), потім був названий на честь Ахілла — Achillea. У середні віки його називали Selina, Cazaria, Ispla Rosia, Nisi, Rubra тощо. З XV сторіччя він одержав грецьку назву — Phidonissi (Ophidonissi), потім мав російську назву — острів Зміїний, турецьку — Ilan Adassi і з 1870 р. румунську — Insula Serpilor [11]. Про острів згадують у своїх творах відомі грецькі письменники Міллет, Піндар, Евріпід, Філострат, географ Сцилак та багато інших, включаючи натуралістів Плінія, Юлія Солінуса, географа Птоломея тощо. У XIX ст. острів описували різні дослідники: Келер (1827), командор Крицький (1824), археолог, член одеського товариства історії та древностей М. М. Мурзакевич (1841) [12], професор Рішельєвського ліцею О. Д. Нордманн (1844) та ін. У 1902 р. О. Прокоповичем був надрукований список рослин острова. У першій половині XX ст. флору острова досліджували М. Палліс (M. Pallis, 1916), І. Продан (I. Prodan, 1923), Г. Бужорану (G. Bujoreanu, 1926), А. Борца (A. Borza, 1924—1928), Р. Калієнеску (R. Calienescu, 1931) та ін. Слід вказати, що Зміїний — це об'єкт дослідження багатьох орнітологів: А. Шпісса (A. Spiess), Р. Дроста (R. Drost), Р. Якобі (R. Iacobi),

А. І. Корзюкова та ін. За даними Р. Дроста [13] у 1928 році на острові був невеликий гайок з *Elaeagnus argentea* L. (лох сріблястий), де він ловив птахів для кільцювання. Багаторазово саджали *Robinia pseudacacia L.* (біла акація) та *Prunus divaricata* Ledeb. (алича), однак із-за сильного вітру розмір цих дерев не перевищував висоти будинків та парканів. У післявоєнний період острів довго був закритою зоною і вивчення флори здійснювалося дуже нечасто і фрагментарно.

А. Борца [14] знайшов на острові 34 види з 29 родів та 16 родин, причому 31 вид з 24 родів та 15 родин належав до класу дводольних. Р. Калієнеску [11] описував не лише квіткові, але й вищі спорові рослини, водорості і лишайники. Автор назвав 66 видів з 50 родів та 18 родин квіткових рослин, один вид з одного роду та однієї родини мохів, два види з двох родів та двох родин водоростей, три види з трьох родів та однієї родини — лишайників. Серед *Magnoliophyta* (квіткових рослин) *Magnoliopsida* (Дводольні) складали 66 видів з 50 родів та 18 родин, а *Liliopsida* (Однодольні) — 15 видів з 12 родів та трьох родин.

У 1997 році на острові було зібрано 42 види квіткових рослин з 37 родів та 17 родин та два види з двох родів і двох родин лишайників. Однодольні були представлені 10 видами з 10 родів та однієї родини.

Взагалі список квіткових рослин острова, що були зібрані різними дослідниками у різний час, включає 112 видів з 81 роду та 28 родин. За нашими даними, зараз там ростуть 78 видів з 67 родів та 27 родин. Дводольні представлені 59 видами з 41 роду та 24 родин, а однодольні — 19 видами з 16 родів та 3 родин. Пропорції флори дуже низькі і складають 1 : 2,6 : 2,9, що характеризує флору сильно порушених місцезростань.

На острові дуже чітко можна спостерігати сезонність рослинного покриву. Найбільша кількість квітучих рослин припадає на другу половину травня — початок червня. Саме у цей час відбувається масове цвітіння представників родини Бобових, що складають основний аспект. В середині літа, коли спека досягає + 50 °С, у рослинному покриві залишаються лише види, що витримують такі умови існування, і це переважно представники родини Тонконогові.

Цікаво, що усі автори наводять лише 18 видів: *Anthriscus caucalis* M. Bieb. (бугила пазурникова), *Matricaria recutita* (L.) Rauchert (ромашка лікарська), *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik. (грицики звичайні), *Holosteum umbellatum* L. (костянець зонтичний), *Spergularia media* (L.) Presl. (стелюшок морський), *Stellaria media* (L.) Vill. (зірочник середній), *Chenopodium album* L. (лобода біла), *Trifolium arvense* L. (конюшина польова), *T. campestre* Schreb. (к. рівнинна), *Ornithogalum refractum* Schlecht. (рястка відігнута), *Anisantha tectorum* (L.) Nevski (анізанта покрівельна), *Bromus mollis* L. (бромус м'який), *Calamagrostis* epigeios (L.) Roth. (куничник наземний), *Vulpia myuros* (L.) C. C. Gmel. (вульпія війчаста), *Polygonum aviculare* L. (гірчак звичайний),

Rumex acetosella L. (щавель горобиний), *Galium aparine* L. (підмаренник чіпкий), *Urtica urens* L. (кропива жалка).

За думкою італійських дослідників [15], за аналізу флор, суттєво змінених людиною, слід брати до уваги лише спонтанні види. Рослини острова належать саме до цієї групи. У рослинному покриві острова у сучасний період були знайдені *Amaranthus albus* L. (щириця біла), *Asparagus verticillatus* L. (холодок кільчастий), *Torilis ucrainica* Spreng. (ториліс український), *Anthemis ruthenica* M. Bieb. (роман руський), *Xanthium spinosum* L. (нетреба колюча), *X. strumarium* L. (н. звичайна), *Cynanchum acutum* L. (цинанхум гострий), *Myosotis micrantha* Pall.ex Lehm. (незабудка дрібноквіткова), *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (різушка Таля), *Cardaria draba* L. (кардарія крупковидна), *Descurainia sophia* L. (дескурайнія Софії), *Cerastium nemorale* M. Bieb. (роговик дібровний), *Spergula arvensis* L. (шпрегель польовий), *Spergularia salina* J. Presl. & S. Presl. (стелюшок солончаковий), *Atriplex tatarica* L. (лутига татарська), *Convolvulus arvensis* L. (берізка польова), *Trifolium borysthenicum* Grum. (конюшина дніпровська), *Trigonella monspeliaca* L. (гуньба монпелійська), *Vicia cracca* L. (горошок мишачий), *V. hirsuta* (L.) S. F. Gray. (г. шорсткий), *V. grandiflora* Scop. (г. великоквітковий), *Heliotropium ellipticum* Ledeb. (геліоторп еліптичний), *Lamium amplexicaule* L. (глуха кропива стеблообгортна), *Lavatera thuringiaca* L. (лаватера тюрінгська), *Digitaria ischaemum* (Schreb.) Muehl., (пальчатка кровоспиняюча), *D. sanguinalis* (L.) Scop. (п. кров'яна), *Hordeum murinum* L. (ячмінь мишачий), *Koeleria cristata* (L.) Pers. (келерія гребінчаста), *Milium effusum* L. (просянка розлога), *Lolium perenne* L. (пажитниця багаторічна), *Poa pratensis* L. (тонконіг лучний), *P. nemoralis* L. (т. дібровний), *Plantago lanceolata* L. (подорожник ланцетолистий), *P. dubia* L. (п. сумнівний), *Rumex hydrolapatum* Huds. (щавель прибережний), *Anagalis arvensis* L. (курячі очка польові), *A. caerulea Schreb.* (к. о. голубі), *Tribulus terrestris* L. (якірці сланкі).

Це переважно однорічники (52% від загальної їх кількості) та монокарпіки (56%) зі стрижневою кореневою системою (80%), серед яких 12% складають кореневідприскові рослини. Занесені види за обсягом трохи менші, ніж апофітні (48 : 52). Кількість археофітів у 1,4 рази перевищує кількість кенофітів, що вказує на розповсюдження тут рослин, здавна пристосованих до життя в умовах регіону. За походженням адвентивні рослини найбільше представлені середземноморським регіоном та дуже незначно Америкою та Європою.

Серед нових рослин острова переважають широкоареальні (64%), із них космополіти та гемікосмополіти складають майже 69%.

За чутливістю до вологи найбільшою кількістю видів представлена мезофітна фракція (68%), що властиве також флорі порушених місцезростань прилеглих районів материка, а за чутливістю до світла — геліофітна фракція (88%), що притаманно і степовій зоні.

Спосіб пристосування до розповсюдження плодів та насіння представлений на рис. 2.

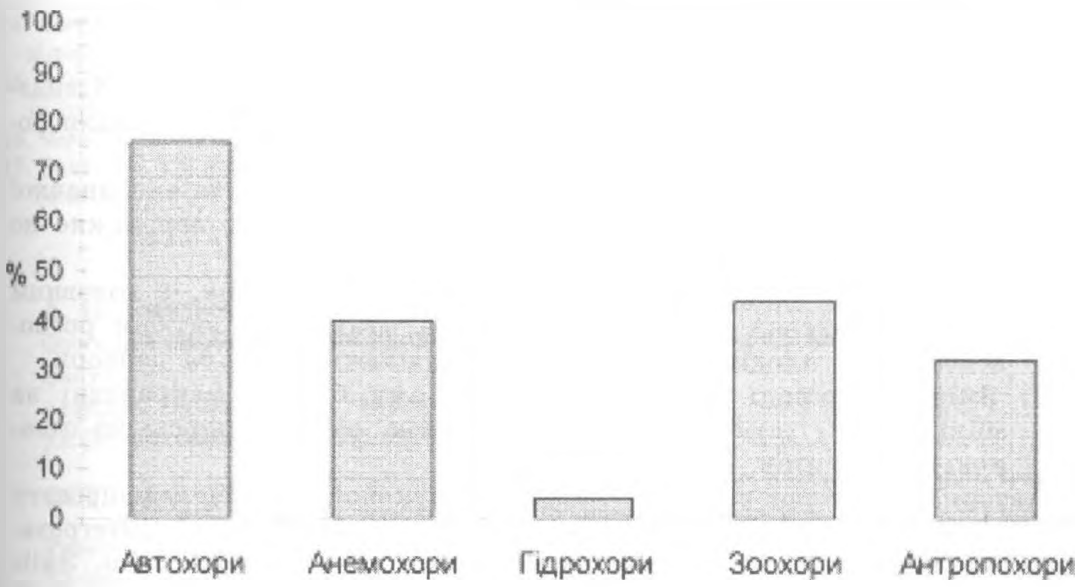


Рис. 2. Розподіл рослин за способами розповсюдження діаспор (% від загальної кількості видів)

З рисунку видно, що найбільшу кількість мають рослини — автохори, далі йдуть зоохори та анемохори. Ряд видів може розповсюджуватися кількома способами. Можна припустити, що поява рослин не завжди пов'язана з людською діяльністю, а залежить від сильних вітрів, що є невід'ємною ознакою острова, та птахів, які використовують його як місце відпочинку під час міграції на південь. За відомими даними Ч. Дарвіна, з землі на ногах куріпок було виділено насіння більш ніж 20 видів, а ендозоохорний тип розповсюдження плодів та насіння притаманний багатьом птахам.

За господарсько цінними ознаками серед цих рослин найбільшу частку складають бур'яни (72%), далі йдуть кормові (40%), лікарські (28%), вітамінні, декоративні та отруйні (по 20%), один вид може мати комплекс господарських ознак. Серед рідкісних та зникаючих видів знайдено лише один вид, занесений до Червоної книги України [16], Червоної книги Чорного моря [17] та Списку рідкісних і зникаючих рослин Одеської області — *Ornithogalum refractum* Schlecht.

Таким чином, флора острова зазнає значних змін. На нашу думку ці зміни будуть посилюватися із-за демілітаризації острова та нового використання його площі. Разом з деревами та кущами, які мають висадити на острові, обов'язково з'являться нові види, найвірогідніше бур'яни.

Разом з відвідувачами (острів планується використовувати як туристичний центр) також можуть бути занесені нові види. Не слід виключати і здичавіння декоративних рослин, що, як видно на прикладі флори населених пунктів Бессарабії, легко входять у природні угруповування, невеликі залишки яких збереглися на острові.

Висновки

1. Сучасна флора насіннєвих рослин острова представлена 78 видами з 67 родів та 27 родин, що значно більше, ніж вказували попередні дослідники.
2. Зміни у складі флори відбуваються за рахунок появи значної кількості (більше 30) нових видів, які належать переважно до бур'янів.
3. Факторами, що викликають зміни у складі флори, є головним чином людська діяльність, вітер та птахи. За засобом розповсюдження плодів та насіння переважають авто- та зоохори.
4. Зміни у складі флори у майбутньому будуть направлені на збільшення частки адвентивних видів, за господарською ознакою — бур'янів.

Автори висловлюють щиру подяку науковому керівнику проекту "Проведення комплексного обстеження та розробка системи інтегрованого екологічного моніторингу і довгострокових досліджень о. Зміїний та прилеглого шельфу" акад. В.А. Сминтині за організацію наукових експедицій.

Дякуємо також акад. Ю. П. Зайцеву і проф. В. М. Тоцькому за цінні поради, д. б. н. Б. Г. Александрову, к. б. н., доц. С. Є. Дятлову, к. б. н., доц. Д. А. Ківганову, ас. О. В. Чернявському, доценту кафедри ґрунтознавства П. І. Жанталаю, а також А. Данилишину і І. Омельчуку за допомогу у збиранні матеріалу.

Література

1. *Толмачев А. И.* Введение в географию растений. — Л.: Изд. Лен. ун-та, 1974. — 244 с.
2. *Серебряков И. Г.* Экологическая морфология растений. — М.: Высшая школа, 1962. — 378 с.
3. *Фёдоров Ан. А., Кирпичников М.Э., Артюшенко З. Т.* Атлас по описательной морфологии высших растений: Стебель и корни. — М.—Л.: Изд. АН СССР, 1962. — 352 с.
4. *Протопопова В. В.* Синантропная флора Украины и пути её развития. — К.: Наук. думка, 1990. — 204 с.
5. *Лаптєв О. О.* Екологія рослин з основами біоценології. — К.: Фітосоціоцентр, 2001. — 144 с.
6. *Артюшенко З. Т., Фёдоров Ан. А.* Атлас по описательной морфологии высших растений: Плод. — Л.: Наука, 1988. — 392 с.
7. *Вульф Е. В., Малеева О. Ф.* Мировые ресурсы полезных растений: справочник. — Л.: Наука, 1969. — 564 с.
8. *Сорные* растения СССР. Руководство к определению сорных растений СССР. — Л.: Изд. АН СССР. — Т. 1—1934. — 332 с.; Т. 2. — 1934. — 244 с.; Т. 3. — 1934. — 447 с.; Т. 4. — 1935. — 416 с.
9. *Бур'яни* України. — К.: Наук. думка, 1970. — 508 с.
10. *Mosyakin S. & Fedoronchuk M.* Vascular plants of Ukraine: Nomenclatural checklist. — Kiev, 1999. — 346 p.
11. *Calienescu R. I.* Insula Serpilor //Analele Dobrogei. — 1931. — XII. — P. 1—62
12. *Мурзакевич Н. Н.* Поездка на остров Левке или Фидониси, в 1841 году // Записки Одесского общества истории и древности, 1844. — Т. 1. — С. 35—42
13. *Drost R.* Uber den Vogelzug auf der Schlangeninsel im Schwarzen Meer Kommissions. — Berlin: Verlag R. Friedlander und Sohn, 1930. — N 2. — 42 p.

14. *Borza Al.* Observatiuni Fitosociologice pe insula Serpilor // Lucraririle intaiului congres al.naturalistoilor din Romania, Cluj, 18—21 aprile 1928. — 1928. — P. 78—93.
15. *Celesti Grapow L., Blasi C.* A comparison of the urban flora of different phytoclimatic regions in Italy // Global Ecology and Biogeography Letters / — 1998. — 7. — P. 367—378.
16. *Червона книга України: Рослинний світ. — К.: Укр. енцикл., 1996. — 608 с.*
17. *Dyatlov S. Ye., Vasilieva T. V.* Ornithogalum refractum // Black Sea Red Data Book. — New York: United Nations Publications, 1999. — P. 79—80.

А. И. Корзюков, Т. В. Васильева, С. Г. Коваленко
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, биологический факультет,
кафедры зоологии и ботаники
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ОСТРОВ ЗМЕИНЫЙ И СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ЕГО ФЛОРЫ

Резюме

Кратко рассматривается история острова Змеиного и работы отечественных и зарубежных исследователей флоры острова в XX веке. Анализируются эколого-биологические особенности растений, появившихся на острове в последние годы. Прогнозируются изменения флоры, связанные с хозяйственной деятельностью человека

Ключевые слова: Флора, остров Змеиный, Чёрное море, занесенные растения

A. I. Korzykov, T. V. Vasylieva, S. G. Kovalenko
Odessa National Mechnikov University,
Departments of Zoology and Botany
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

THE ISLAND ZMEINYI AND ITS MODERN FLORA

Summary

The history of the island Zmeinyi and the works of national and foreign investigators of the XX century island's flora have been shortly investigated. There were analyzed the ecological and biological peculiarities of plants, which have appeared here lately. Flora changes connected with human activity are faretelled.

Keywords: Flora, the island Zmeinyi, the Black Sea, alien plants.

УДК 58.051:631.816.3

О. Б. Паузер[1], канд. біол. наук, доц., **С. І. Бурикіна**[2], канд. сільгосп. наук, зав. відділом агрохімії

[1] Одеський національний університет, кафедра ботаніки, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна, e-mail: pauzer@ukr.net

[2] Одеський інститут агропромислового виробництва, Центр наукового забезпечення АПВ Одеської області, Маякська дор., 1, смт. Хліободарське, Біляївський р-н, Одеської обл., 67667, Україна, e-mail:opitna@te.ua

ВИКОРИСТАННЯ КОМПЛЕКСОНУ ТА СІРЧАНОКИСЛОГО ЦИНКУ В ПОСІВАХ ЗЕРНОВИХ КУЛЬТУР

В польових дослідах з озимою пшеницею та озимим ячменем використовували гранульований суперфосфат, збагачений оксіетилідендифосфоновою кислотою (ОЕДФ), чисту ОЕДФ та сульфат цинку, які вносили в ґрунт і / або обприскували їх розчинами рослини. На посівах озимої пшениці отримано збільшення врожаю: за використання суперфосфату, модифікованого ОЕДФ, а також за обприскування посіву розчином ОЕДФ — на 3,3 и 1,7 ц/га в порівнянні з урожаєм, отриманим на фоні повного добрива; за обприскування розчином сульфату цинку — на 2,6—2,9 ц/га. Обприскування посіву озимого ячменю розчином сульфату цинку супроводжувалося збільшенням врожаю на 3,7 ц/га; використання ОЕДФ (у будь-якому вигляді) збільшувало врожай на 0,9—1,1%.

Ключові слова: мікроелементи, комплексони, ґрунтове живлення; позакореневе підживлення.

Збалансоване забезпечення рослин всіма необхідними елементами живлення гарантує одержання високих врожаїв повноцінної за якістю сільськогосподарської продукції. Одною з ланок хімізації є використання мікроелементів і комплексонів. Комплексони — штучні хелатуючі сполуки, головним чином похідні фосфонових кислот. Комплексон оксіетилідендифосфонової кислоти (ОЕДФ) додається на одній з технологічних стадій виробництва гранульованого суперфосфату з апатитового концентрату на Одеському суперфосфатному заводі.

Недостатнє використання рослинами мікроелементів часто пов'язане з тим, що вони знаходяться у формі, недоступній рослинам [1—5]. Комплексони спроможні переводити мікроелементи безпосередньо в ґрунті в біологічно активні сполуки [6—11]. За допомогою комплексонатів (солей комплексонів) підвищується розчинність мікроелементів (цинку і марганцю) та заліза, а також їх доступність для рослин у більшості ґрунтів України, у тому числі карбонатних [8], до яких відносяться ґрунти півдня Одеської області.

© О. Б. Паузер, С. І. Бурикіна, 2004

Метою роботи було вивчення впливу добрив з додатками комплексону, чистої ОЕДФ і сульфату цинку на біометричні і біохімічні показники зернових культур. Для цього використовували добрива з додатками комплексону та без нього, чисту ОЕДФ, а також комплексонат цинку, які вносили у ґрунт або застосовували шляхом обприскування рослин озимої пшениці та озимого ячменю. Вивчали зміст азоту, фосфору та калію (NPK) у ґрунті та в рослинах, структуру колосу та врожаю, біохімічні показники рослин та їх врожайність.

Матеріали і методи дослідження

Досліди виконували на полях смт. Хлібодарське, ґрунти яких є південними мало гумусними важко суглинистими на лесі окультуреними чорноземами. Розміри посівної ділянки 75—140 м^2, облікової — 50—100 м^2, повторність чотириразова. Попередники для культур — зернові. У роботі використовували районовані і перспективні сорти: озимої пшениці — Альбатрос одеський, озимого ячменю — Росава. Основні добрива вносили в ґрунт у вигляді аміачної селітри, гранульованого суперфосфату та хлористого калію, а також суперфосфату, модифікованого ОЕДФ і суперфосфату з комплексонатом цинку. Сульфат цинку і ОЕДФ (2 кг/га) були внесені на тлі основних твердих мінеральних добрив локально в рядки і поверхнево шляхом позакореневої обробки рослин. Обприскування рослин здійснювали 0,5%-ними розчинами сульфату цинку і ОЕДФ. Досліди провадили за методикою польового досліду з добривами [12].

Умови досліду: 1. Без добрив; 2. $N_{90}P_{60}K_{40}$ — фон (P_{60} — суперфосфат чистий — СФ); 3. $N_{90}P_{60}K_{40}$ (P_{60} — СФ, збагачений ОЕДФ); 4. Фон + $ZnSO_4$ (2 кг/га, внесений до ґрунту); 5. Фон + ОЕДФ, внесений до ґрунту; 6. Фон + ZnSO4 (0,5% розчин) — обприскування рослин весною у фазу кущіння; 7. Фон + ОЕДФ (0,5% розчин) — обприскування рослин весною у фазу кущіння; 8. Фон + $ZnSO_4$ (0,5% розчин) — обприскування рослин у фазу стеблування; 9. Фон + ОЕДФ (0,5% розчин) — обприскування рослин у фазу стеблування.

В ґрунтах визначали pH, гумус, суму увібраних основ, валові форми NPK, рухомі форми мікроелементів (цинку після екстрагування оцтово-амонійним буфером, марганцю і заліза — після екстрагування 0,1 н. сірчаною кислотою), азот, рухомий фосфор і обмінний калій за стандартними агрохімічними методиками [14]. Наприкінці вегетаційного періоду визначали структуру врожаю: висоту стебла, довжину колоса, кількість колосків у колосі, вагу зерна з одного колосу, кількість зерен у колосі; показники його якості: масу 1000 зерен, масу 1 л зерна, а також провадили аналіз рослин на зміст азоту, фосфору і калію [14]. Були визначені врожайність культур і біохімічні параметри врожаю: вміст білка, сирої клейковини, а також скловидність [13]. Показники врожаю зерна (за три роки) і всі інші дані підлягали математичній обробці [12].

Результати досліджень та їх обговорення

Засвоєння рослинами елементів мінерального живлення є складним фізіологічним процесом, який залежить від біології самої рослини і від навколишнього середовища, насамперед ґрунту. Польовий дослід дає можливість з'ясувати значення окремих поживних речовин для рослини, а також простежити, як вони засвоюються тією чи іншою культурою за різних умов живлення.

Аналіз ґрунтових зразків перед закладкою досліду підтвердив низький вміст (мг/кг) рухомих форм мікроелементів як в орному шарі 0—20 см, так і в підорному 20—40 см: цинку — 0,4—0,6; марганцю — 171—245,8; заліза — 37,2—48,7. Відзначено тенденцію до зниження вмісту двох перших мікроелементів у більш глибоких шарах, а щодо заліза, то воно розподілялося по горизонтах ґрунту більш рівномірно. Ці дані узгоджуються із результатами дослідів Інституту ґрунтознавства і агрохімії [15], які показали, що вміст цинку, марганцю та заліза на південних слабко гумусних чорноземах коливається від низького до середнього.

У фазу кущіння проведено аналіз ґрунту, який показав значний вплив мінеральних добрив на азотний, фосфорний і калійний режим ґрунту під досліджуваними культурами. Відзначено зміну вмісту рухомих форм елементів по глибині горизонтів ґрунту з деякою тенденцію до нагромадження більшої кількості елементів живлення у варіантах з використанням ОЕДФ. Внесення в ґрунт суперфосфату, що містить ОЕДФ, збільшує рухливість азоту, вміст якого зростає з глибиною.

Одночасно провели біохімічний аналіз рослин, який не виявив істотного впливу форм і засобів застосування добрив на накопичення основних елементів живлення в вегетативних частинах рослин (табл. 1).

Найбільш чутливим на внесення ОЕДФ був ячмінь, в надземних частинах якого відмічено зростання вмісту азоту та фосфору (3, 5 і 7 варіанти досліду). Таке поліпшення умов живлення рослин створює умови для посилення їх росту та прискорення розвитку.

Кліматичні умови, які характеризувалися підвищеною температурою та нестачею вологи в ґрунті, привели до припинення росту нових пагонів у фазу кущіння, в фазу стеблування — до уповільнення темпів росту стебла, за цвітіння — до зменшення кількості плідних квіток, а в фазу наливу зерна — до утворення щуплого зерна.

В наших дослідах показники висоти рослин пшениці були низькими як у контрольних, так і у дослідних варіантах (табл. 2).

Тільки два варіанти досліду (повне добриво без ОЕДФ і з ОЕДФ) виявили показники, що перевищували контроль на 18-19%. У рослин озимого ячменю більш високі показники росту спостерігалися в таких же варіантах досліду, але ефект був значно меншим — збільшення росту рослин перевищувало контроль на 4-5%. На структуру врожаю застосування добрив достатнього впливу не виявляло. Довжина

колосу і кількість колосків у колосі пшениці в різних варіантах досліду істотно не відрізнялося, а у ячменю довжина колосу на 8-14% була більшою в дослідних варіантах порівняно з контролем. Маса зерна одного колосу пшениці у варіантах з добривами перевищує контроль на 5—12%, а у ячменю — на 8—20%. Кількість зерен у колосі обох культур найбільша (до 23%) у варіантах досліду, за яких рослини обприскували ОЕДФ і сульфатом цинку у фазу стеблування.

Таблиця 1

Вміст поживних елементів у вегетативних органах озимої пшениці й озимого ячменю у фазу кущіння, %

Варіант досліду	Культура	Надземна маса			Корені		
		N	P_2O_5	K_2O	N	P_2O_5	K_2O
1	Пшениця	3,73	0,25	4,05	2,20	0,39	2,32
	Ячмінь	4,09	0,58	3,73	3,12	0,53	2,53
2	Пшениця	3,94	0,29	4,34	2,53	0,43	2,52
	Ячмінь	3,73	0,65	3,76	3,12	0,54	2,47
3	Пшениця	3,95	0,30	4,24	1,79	0,40	2,31
	Ячмінь	3,62	0,68[1]	3,19	3,82	0,52	2,47
4	Пшениця	3,81	0,28	4,15	1,77	0,34	1,91
	Ячмінь	4,06	0,65	3,70	3,32	0,59	2,65
5	Пшениця	3,50	0,21	4,19	1,99	0,33	2,03
	Ячмінь	4,14[2]	0,48	3,82	2,90	0,55	2,77
6	Пшениця	3,87	0,31	4,10	1,69	0,31	1,98
	Ячмінь	4,26[2]	0,60	3,86	3,03	0,60	2,72
7	Пшениця	4,06[1]	0,32[1]	4,60[1]	1,97	0,42	2,44
	Ячмінь	4,43[2]	0,72[1]	3,77	3,02	0,61	2,61
8	Пшениця	3,87	0,27	4,03	1,76	0,30	2,32
	Ячмінь	4,23[2]	0,61	4,05	3,25	0,61	2,75
9	Пшениця	4,06	0,32[1]	4,84[1]	2,18	0,39	2,41
	Ячмінь	4,62[1,2]	0,72[1]	3,48	2,90	0,51	2,70
$НІР_{05}$	Пшениця	0,28	0,07	0,54	0,33	0,06	0,25
	Ячмінь	0,399	0,09	0,81	0,52	0,12	0,45

Примітка. Тут і далі: [1] — вірогідно перевищує варіант 1 (без добрив); [2] — вірогідно перевищує варіант 2 (фон + СФ).

У зв'язку з тим, що в наших дослідах фактори клімату були однаково несприятливими, можна вважати, що різниця між варіантами за вмістом клейковини обумовлена впливом добрив (табл. 3). Інші показники якості зерна в усіх дослідних варіантах були на рівні контролю.

Висока натура — маса 1 л зерна — характерна тільки для варіанту з обприскуванням рослин розчином солі цинку в фазу стеблування: перевищення цього показника над фоновим рівнем дорівнює

2,6%. Маса 1000 зерен у контрольному варіанті (без добрив) на 4—6% менша в порівнянні з варіантами, в яких впроваджували добрива, — зерно у контрольних рослин щупле.

Таблиця 2

Структура врожаю рослин озимої пшениці і ячменю

Варіант досліду	Культура	Довжина стебла, см	Довжина колосу, см	Кількість колосків у колосі	Кількість зерен у колосі	Маса зерен в одному колосі, г
1	Пшениця	66,0	8,8	16,7	44,5	1,63
	Ячмінь	55,8	4.9	9,5	30,1	1,36
2	Пшениця	77,7[1]	8.5	17,7	49,1[1]	1,73
	Ячмінь	58,0[1]	5,6[1]	11.1[1]	34,9[1]	1.48[1]
3	Пшениця	78,3[1]	8.8	17,3	47,2	1,72
	Ячмінь	58,0[1]	5,3[1]	10,5	35,6[1]	1,40
4	Пшениця	66.5	8.6	18,6[1]	48,5	1,74
	Ячмінь	55,2	4,7	9,5	37,1[1]	1,56[1]
5	Пшениця	67,8	8,7	17,3	53,0[1]	1,77
	Ячмінь	57,1	3.9	8,6	29,3	1,52[1]
6	Пшениця	68,0	8,6	17,2	56,2[1,2]	1,78[1]
	Ячмінь	58,6[1]	5,6[1]	10,0	31,3	1,40
7	Пшениця	65,5	8,5	16,9	49,3[1]	1,77
	Ячмінь	58,2[1]	5.5[1]	10,5	31,1	1,54[1]
8	Пшениця	66.9	8.7	17,3	54,2[1,2]	1,79[1]
	Ячмінь	56,6	5,2[1]	11,1[1]	36,3[1]	1,63[1,2]
9	Пшениця	68.6	8.8	17,3	54,9[1,2]	1,82[1]
	Ячмінь	57,2	5,0	10,8[1]	36,7[1]	1.58[1]
$НІР_{05}$	Пшениця	6,3	0,3	1,2	4,4	0,15
	Ячмінь	2,1	0,2	1,3	2,9	0,12

Таблиця 3

Якість зерна озимої пшениці

Варіант досліду	Маса 1 л зерна, г	Маса 1000 зерен, г	Склови-дність, %	Клейко-вина, %	Сирий білок, %	P_2O_5, %	K_2O, %
1	756,9	37,40	99,3	31,89	14,46	0,29	0,46
2	748.1	39,38[1]	98.0	33,26[1]	15,34	0,23	0,46
3	750.2	38.37	98.7	33,17[1]	14,74	0,28	0,47
4	750,2	38,41	99,0	33.19[1]	13,97	0,27	0.47
5	755,7[2]	38,80[1]	98,7	34,26[1,2]	14,91	0,29	0,45
6	755,9[2]	39,53[1]	96.7	34,70[1,2]	16,08	0,29	0,46
7	752,2[2]	39,16[1]	98.7	35,01[1,2]	15,50	0,27	0,46
8	767,3[1,2]	38,64	98.0	34,68[1,2]	15,65	0,29	0,44
9	744,6	38.91[1]	97,3	34,81[1,2]	15,37	0,28	0.47
$НІР_{05}$	2,69	1,26	2,69	0,42	2,07	0,04	0.03

Врожайність озимої пшениці та озимого ячменю визначали протягом трьох років. Незважаючи на дуже несприятливі погодні умови (висока температура і недостатня кількість опадів), особливо в період наливу зерна, врожай в усіх варіантах досліду із застосуванням добрив, ОЕДФ і солі цинку перевищував контроль (табл. 4). У контрольному варіанті врожайність ячменю склала (ц/га): у перший рік досліду — 23,1; у другий рік — 29,5; у третій — 36,4. Врожайність ячменю в дослідних варіантах була вищою за контроль на 21—39; 45—67; 24—39 %, відповідно по роках. Найбільш високі показники були у варіантах, коли ОЕДФ і сіль цинку вносили в ґрунт разом з основним добривом, а також у тих випадках, де провадили обприскування рослин сіллю цинку.

Таблиця 4

Врожай зерна озимої пшениці і озимого ячменю за 3 роки дослідження

Варіанти досліду	Культура	Середнє за 3 роки. ц/га	Додаток до врожаю*			
			ц/га		%	
			1	2	1	2
1	Пшениця	42,96	-	-	-	-
	Ячмінь	29,7	-	-	-	-
2	Пшениця	50,20	7,24	-	16,9	-
	Ячмінь	39,01	9.31	-	31,4	-
3	Пшениця	53,52	10.56	3,32	24,6	6,6
	Ячмінь	39.41	9,71	0,40	32,7	1,0
4	Пшениця	50,06	7,10	-	17,8	-
	Ячмінь	42,36	12,66	3,35	42,6	8,6
5	Пшениця	51,26	8,30	1,06	19,3	2,1
	Ячмінь	40,11	10,40	1.10	35,0	2,8
6	Пшениця	53.12	10,06	2,92	23,4	5,8
	Ячмінь	42,68	12,98	3,67	43,7	9,4
7	Пшениця	50,36	7,40	0.16	17,2	0,3
	Ячмінь	39,94	10,24	0,93	34.5	2,4
8	Пшениця	52,77	9,81	2,57	22,8	5,1
	Ячмінь	41,31	11,61	2,30	39,0	5,9
9	Пшениця	51,75	8,69	1,55	20,2	3,1
	Ячмінь	39,87	10.17	0.86	34,2	2,2

*Примітка. 1 — додаток відносно варіанту без добрив; 2 — додаток відносно варіанту з фоновим внесенням добрив

Врожайність пшениці у контрольному варіанті була такою (ц/га): у перший рік досліду — 50,0; у другий рік — 37,1; у третій — 41,8. Врожайність у дослідних варіантах була значно вищою — на 9—14; 21—44; 10—22 % відповідно по роках. Найменш ефективним було обприскування рослин розчином ОЕДФ у фазу кущіння, а найбільш високі показники виявились у варіантах з застосуванням збагаченого

ОЕДФ суперфосфату і обприскування рослин сіллю цинку у фазу кущіння.

За ступенем впливу на врожай варіанти добрив можна розташувати в такий ряд: для пшениці — 3 > 6 > 8 > 9 > 5 > 4 >7 > 2; для ячменю — 6 > 4 > 8 > 5 = 7 = 9 > 3 > 2.

Найбільш високі врожаї пшениці і ячменю були отримані у випадку обприскування рослин у фазу кущіння і стеблування сіллю цинку, який є мікроелементом, що підвищує стійкість рослин до дії високих температур [16]. Для пшениці найкращі показники були отримані у варіанті із суперфосфатом, збагаченим ОЕДФ: збільшення врожаю склало 3,32%. На посівах озимої пшениці за використання суперфосфату, модифікованого ОЕДФ, а також за обприскування посівів розчином ОЕДФ збільшення врожаю склало 3,3 і 1,7 ц/га, за обприскування сіллю цинку — 2,6—2,9 ц/га в порівнянні з фоном повного добрива. За обприскування посівів озимого ячменю розчином сульфату цинку (відповідно у фазу кущіння і стеблування) збільшення врожаю склало 3,7 и 2,3 ц/га,; використання ОЕДФ (у будь-якому вигляді) дало збільшення на 0,9—1,1 ц/га.

На підставі проведених досліджень можна рекомендувати для впровадження у виробництво використання суперфосфату, збагаченого ОЕДФ, на ґрунтах з низьким вмістом мікроелементів.

Висновки

1. Збагачений комплексоном ОЕДФ суперфосфат, чиста ОЕДФ і сірчанокислий цинк за внесення в ґрунт і обприскування рослин поліпшують структуру врожаю і показники його якості.
2. Застосування цинку і ОЕДФ виявляє сприятливий вплив на врожайність рослин. Найбільше зростання врожайності спостерігається за обприскування рослин сульфатом цинку.

Література

1. *Орошение* на Одесщине: Почвенно-экологические и агротехнические аспекты. / Под ред. И. Н. Гоголева. — Одесса, 1992. — 436 с.
2. *Добролюбский О. К.* Цинк в почвах и сельскохозяйственных культурах юга Украины // Матер. науч. конф. ф-та виногр. и плодоов. Одесский с.-х. ин-т. — Одесса, 1970. — С. 118—131.
3. *Паузер Е. Б.* Закономерности поглощения цинка растениями в условиях орошения: Автореф.дис. ... канд.биол.наук. — Киев, 1988. — 16 с.
4. *Паузер О. Б., Якуба І. П.* Міграція марганцю на зрошуваних полях півдня Одеської області / Мат. XI з'їзду Укр. бот. тов-ства (Харків, 25—27 вересня 2001). — Харків, 2001. — С. 291.
5. *Паузер О. Б., Швець Г. А., Якуба І. П.* Вміст і динаміка рухомого марганцю на полях півдня Одещини // Аграрний вісник Причорномор'я / Збірник наукових праць. — Біолог., с.-г. та ветеринарні науки. — 2002. — Вип. 4 (15). — С. 37—41.
6. *Глущенко Л. Г., Дутченко З. Я., Мишнев А. К.* Эффективность комплексонатов и микроэлементов на подсолнечнике // Химия в с. х. — 1991. — № 6. — С. 75—77.
7. *Горелов И. П., Никольский В. М.* Комплексоны — производные дикарбоновых кислот // Химия в с. х. — 1987. — № 1. — С. 45—49.

8. *Островская Л. К., Зайцева Н. А.* Комплексоны для регулирования питания растений и борьбы с карбонатным хлорозом // Химия в с. х. — 1987. — № 1. — С. 49—52.
9. *Гусева М. И.* Комплексоны при обработке гороха // Химия в с. х. — 1991. — № 6. — С. 66—68.
10. *Островская Л. К.* Биологически активные комплексонаты металлов для борьбы с хлорозом растений // ЖВХО им. Д. И. Менделеева. — 1984. — № 3. — С. 81—87.
11. *Жемела Г. П.* Добрива, урожай і якість зерна. — К.: Урожай, 1991. — 82 с.
12. *Доспехов Б. А.* Методика полевого опыта: Учеб. пособие. — М.: Колос, 1973. — 336 с.
13. *Методы* биохимического исследования растений / Под ред. А. И. Ермакова. — Л.: Агропромиздат, 1987. — 430 с.
14. *Практикум* по агрохимии / Под ред. А. С. Радова. — М.: Колос, 1965. — 375 с.
15. *Захарова М. А.* Влияние орошения на содержание и профильное распределение тяжелых металлов на почвах Украины // Агрохімія і ґрунтознавство. Харків, 2002. — № 63. — С. 117—120.
16. *Применение* микроэлементов в сельском хозяйстве юга Украины: Сб. научн. трудов. — Одеса: Изд-во ОСХИ, 1973. — 136 с.

Е. Б. Паузер, С. И. Бурыкина
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра ботаники,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина,

e-mail: pauzer@ukr.net
Одесский институт агропромышленного производства,
Центр научного обеспечения АПП Одесской области,
Маякская дор., 1, пгт. Хлебодарское, Беляевский р-н, Одесской обл., 67667, Украина
e-mail:opitna@te.ua

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМПЛЕКСОНА И СЕРНОКИСЛОГО ЦИНКА В ПОСЕВАХ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР

Резюме

В полевых опытах с озимой пшеницей и озимым ячменем использовали гранулированный суперфосфат, обогащенный оксиэтилидендифосфоновой кислотой (ОЭДФ), чистую ОЭДФ и сернокислый цинк, которые вносили в почву и/или опрыскивали их растворами растения. На посевах озимой пшеницы получены прибавки урожая: при использовании суперфосфата, модифицированного ОЭДФ, а также при опрыскивании посевов раствором ОЭДФ — 3,3 и 1,7 ц/га по сравнению с фоном полного удобрения, опрыскивание солью цинка — 2,6—2,9 ц/га. При опрыскивании посевов озимого ячменя раствором цинка прибавки составили 3,7 и 2,3 ц/га; использование ОЭДФ (в любом виде) дало прибавку 0,9—1,1 ц/га.

Ключевые слова: микроэлементы, комплексоны, почвенное питание, некорневое питание.

E. Pauzer, S. Burykina
Odessa National I. I. Mechnikov University, Botany Department,
Dvoryanskaya st., 2,Odessa, 65026, Ukraine.

Odessa Agroindustrial Institute, Scientific Provision Center of Agroindustry of Odesskaya oblast,
Mayakskaya dor., 1, settlement Kchlebodarske, Belyaevsky region, Odesskaya oblast, 67667, Ukraine.

USING OF COMPLEXON AND ZINC SULFATE ON THE CROPS

Summary

In field experiments with winter wheat and winter barley the granulated superphosphate enriched with oxyethylidendi phosponic acid (OEDP), pure OEDP and zinc sulfate were used. Fertilizers were used in the soil and/or were sprayed over plants in their solutions. On crops of a winter wheat the increased yields were received: at use of the superphosphate modified with OEDP, and also at spraying crops by solution of OEDP — 3,3 and 1,7 c/ha in comparison with a background of full fertilizer, spraying by salt of zinc — 2,9—2,6 c/ha. The spraying crops of winter barley with a solution of zinc sulfate increased yield for 3,7 and 2,3 c/ha; use OEDP (in any kind) has given the increase 0,9—1,1 c/ha.

Keywords: microelements, complexons, soil nutrition, leaf spraying.

УДК 502.753:581.92(477.74)

О. М. Попова, канд. біол. наук, доц.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра ботаніки, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

РОЛЬ ПРИРОДНО-ЗАПОВІДНОГО ФОНДУ ОДЕСЬКОЇ ОБЛАСТІ У ЗБЕРЕЖЕННІ СУДИННИХ РОСЛИН ЧЕРВОНОЇ КНИГИ УКРАЇНИ

Проведено облік локалітетів рослин Червоної книги України (1996), які зростають на територіях природно-заповідного фонду Одеської області. Виявлено, що зараз за межами територій, що охороняються, знаходиться 2/3 популяцій цих видів.
Ключові слова: раритетні види, Червона книга України, флора, Одеська область, природно-заповідний фонд

Одною з найважливіших проблем сучасності є охорона біорізноманітності, в основі якої лежить збереження популяцій рідкісних видів. Популяційний генофонд дикої флори можна зберегти тільки в заповідних екосистемах, а також шляхом природоохоронного ведення господарства на ділянках будь-якого масштабу [1].

У зв'язку з цим метою роботи став аналіз розповсюдження судинних рослин Червоної книги України (ЧКУ) на природних територіях заповідного фонду Одеської області.

В Одеській області достатньо різноманітна мережа заповідних територій. Вона, зокрема, включає 1 біосферний заповідник — Дунайський, 8 заказників загальнодержавного і 26 — місцевого значення, 4 заповідні урочища, 2 регіональних ландшафтних парки, 2 пам'ятки природи загальнодержавного і 58 — місцевого значення. Площа заповідника становить 46402.9 га, заказників державного значення — від 128 до 8397 га, заказників місцевого значення — від 8,4 до 3176 га, заповідних урочищ — від 1611 до 7620 га, ландшафтних парків —1366 і 13954 га, що у цілому відповідає оптимальним показникам для збереження фітогенофонду [2]. В цілому площа заповідних територій Одеської області на 1 січня 2003 року становить 97905,995 га, або 2,97 % площі області.

На основі власних та літературних даних ми проаналізували останні відомості про розповсюдження судинних рослин Червоної книги України [3] на Одещині в цілому та на територіях, що охороняються. З переліку (таблиця) виключені види, які достовірно вважаються зниклими в області (*Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer, Kulcz. et Pawł., *Silene hypanica* Klokov), та ті, які вказувалися помилково. Всього сьогодні на Одещині зафіксовано 72 види з Червоної книги України (таблиця) [4]. За категоріями охорони [3] вони розподіляються таким

© О. М. Попова, 2004

чином: загрозливих (1 категорія) — 12 видів, уразливих (2 категорія) — 41 вид, рідкісних (3 категорія) — 18 та невизначених (4 категорія) — 1 вид. Сім видів в Україні зустрічаються лише в Одеській області (*Colchicum fominii, Dianthus bessarabicus*, Genista tetragona, Linaria bessarabica, Ornithogalum amphibolum, O. oreoides, Stipa majalis*).

На підставі останнього обліку місцезростань раритетних рослин встановлено, що 43 види зустрічаються в області дуже рідко (1—5 локалитетів, I категорія [6]), 13 видів зустрічаються рідко (6—10 локалитетів, II категорія), 11 видів розповсюджені спорадично (11—20 місцезнаходжень, III категорія), 5 видів зустрічаються часто (відомі більш ніж з 20 локалитетів, IV категорія). Дані про кількість локалітетів на природоохоронних територіях і поза їх межами наведено у таблиці.

Таблиця

Розповсюдження видів Червоної книги України на територіях природно-заповідного фонду Одеської області

ВИД	Категорія виду в ЧКУ	Кількість локалитетів виду			Доля локалитетів на територіях ПЗФ, %	Доля локалитетів поза межами ПЗФ, %
		в області	на територіях ПЗФ	за межами ПЗФ		
1. *Aldrovanda vesiculosa* L.	2	8	2	6	25	75
2. *Allium sphaeropodum* Klokov	1	12	2	10	17	83
3. *A. ursinum* L.	2	3	3	0	100	0
4. *Asparagus pallasii* Miscz.	2	1	0	1	0	100
5. *Astragalus borysthenicus* Klokov	2	4	2	2	50	50
6. A. *dasyanthus* Pall.	2	21	5	16	34	76
7. *Astrodaucus littoralis* (M. Bieb.) Drude	4	3	2	1	67	33
8. *Bulbocodium versicolor* (Ker-Gawl.) Spreng.	1	5	1	4	20	80
9. *Caragana scythica* (Kom.) Pojark.	2	3	1	2	33	67
10. *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce	2	3	3	0	100	0
11. *Chamaecytisus paczoskii* (V. Kresz.) Klášková	3	1	1	0	100	0
12.*Ch. rochelii* (Wierzb.) Rothm.	2	1	0	1	0	100

* Є останні відомості, що *Dianthus bessarabicus* росте на о.Джарилгач [5].

Продовження таблиці

В И Д	Категорія виду в ЧКУ	Кількість локалитетів виду			Доля локалитетів на територіях ПЗФ. %	Доля локалитетів поза межами ПЗФ. %
		в області	на територіях ПЗФ	за межами ПЗФ		
13. *Chrysopogon gryllus* (L.) Trin.	2	1	1	0	100	0
14. *Cladium mariscus* (L.) Pohl	1	1	1	0	100	0
15. *Colchicum ancyrense* B. L. Burtt.	3	17	5	12	29	71
16. C. *fominii* Bordz.	1	12	0	12	0	100
17. *Crambe koktebelica* (Junge) N. Busch.	2	1	0	1	0	100
18. *Crocus reticulatus* Steven ex Adams	3	22	6	16	27	73
19. *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó	3	1	1	0	100	0
20. *D. majalis* (Rchb.) P. F. Hunt et Sammerhayes	3	1	1	0	100	0
21 *Dianthus bessarabicus* Klokov	2	2	1	1	50	50
22. *Dictamnus albus* L.	2	2	1	1	50	50
23. *Doronicum hungaricum* Rchb. fil.	2	1	1	0	100	0
24. *Epipactis helleborine* (L.) Crantz	2	11	11	0	100	0
25. *E. palustris* (L.) Crantz	3	1	1	0	100	0
26. *E. purpurata* Smith	3	1	1	0	100	0
27. *Eremogone cephalotes* (M. Bieb.) Fensl	2	8	3	5	37	63
28. *Euonymus nana* M. Bieb.	1	2	2	0	100	0
29. *Euphorbia valdevillosocarpa* Arvat et Nyár.	3	2	1	1	50	50
30. *Fritillaria montana* Hoppe	1	2	0	2	0	100
31. *F. ruthenica* Wikstr.	2	1	1	0	100	0
32. *Galanthus elwesii* Hook. fil.	3	14	4	10	29	71
33. *G. nivalis* L.	2	8	4	4	50	50
34. *Genista scythica* Pacz.	3	2	1	1	50	50
35. *G. tetragona* Besser	1	2	0	2	0	100
36 . *Gymnospermium odessanum* (DC.) Takht.	2	26	9	17	35	65

Продовження таблиці

ВИД	Категорія виду в ЧКУ	Кількість локалитетів виду			Доля локалитетів на територіях ПЗФ, %	Доля локалитетів поза межами ПЗФ, %
		в області	на територіях ПЗФ	за межами ПЗФ		
37. *Helleborus niger* L.	1	1	1	0	100	0
38. *Iris pontica* Zapał.	2	6	0	6	0	100
39. *Lathyrus venetus* (Mill.) Wohlf.	1	1	1	0	100	0
40. *Leucojum aestivum* L.	2	1	1	0	100	0
41. *Lilium martagon* L.	2	13	6	7	46	54
42. *Linaria bessarabica* Kotov	1	2	1	1	50	50
43. *Marsilea quadrifolia* L.	1	5	0	5	0	100
44. *Neottia nidus-avis* (L.) Rich.	3	5	5	0	100	0
45. *Nymphoides peltata* (S. G. Gmel.) O. Kuntze	2	8	2	6	25	75
46. *Orchis palustris* Jacq.	3	3	1	2	33	67
47. *Ornithogalum amphibolum* Zahar.	3	2	1	1	50	50
48. *O. boucheanum* (Kunth) Aschers	3	9	4	5	44	56
49. *O. oreoides* Zahar.	2	4	2	2	50	50
50. *O. refractum* Schlecht.	2	14	1	13	7	93
51. *Paeonia tenuifolia* L.	2	1	0	1	0	100
52. *Platanthera chlorantha* (Cust.) Rchb.	3	6	6	0	100	0
53 *Pulsatilla grandis* Wender.	2	2	0	2	0	100
54. *P. pratensis* (L.) Mill.	2	8	4	4	50	50.
55. *Salvinia natans* (L.) All.	2	6	2	4	33	67
56. *Securigera elegans* (Pančić) Lassen	2	3	3	0	100	0
57. *Staphylea pinnata* L.	2	5	4	1	80	20
58. *Sternbergia colchiciflora* Waldst.et Kit	2	10	4	6	40	60
59. *Stipa borysthenica* Klokov et Procudin	3	2	2	0	100	0
60. *S. capillata* L.	2	73	13	60	18	82

Закінчення таблиці

ВИД	Категорія виду в ЧКУ	Кількість локалитетів виду			Доля локалитетів на територіях ПЗФ, %	Доля локалитетів поза межами ПЗФ, %
		в області	на територіях ПЗФ	за межами ПЗФ		
61. *S. dasyphylla* (Czern. ex Lindem.) Trautv.	2	6	3	3	50	50
62. *S. lessingiana* Trin. & Rupr.	1	29	6	23	21	79
63. *S. majalis* Klokov	2	1	0	1	0	100
64. *S. pennata* L.	2	18	4	14	22	78
65. *S. pulcherrima* K. Koch	2	15	1	14	7	93
66. *S. tirsa* Steven	2	4	2	2	50	50
67. *S. ucrainica* P.Smirn.	2	17	3	14	18	82
68. *Trapa natans* L. s.l.	2	10	2	8	20	80
69. *Tulipa hypanica* Klokov & Zoz	3	12	3	9	25	75
70. *T. quercetorum* Klokov & Zoz	3	1	1	0	100	0
71. T. *schrenkil* Regel	2	8	3	5	37	63
72. *Viola alba* Besser	1	3	2	1	67	33
Всього	–	520	172	348	–	–

Примітка. Назви рослин наведено за [7].

На територіях природно-заповідного фонду (ПЗФ) зростає 61 вид з Червоної книги України (85 % всіх таких видів в області), в тому числі: першої категорії стрівальності — 34 види, другої —12, третьої — 10 та четвертої — 5 видів. Повністю за межами природно-заповідного фонду знаходяться популяції 11 видів (15 %), з них 9 рослин першої категорії стрівальності, 1 — другої та 1 — третьої категорії (таблиця). Для охорони цих видів якнайшвидше треба створити заказники та мікрозаказники. Особливо це актуально для тих рослин, які в межах України зустрічаються лише в Одеській області (*Colchicum fominii, Genista tetragona, Stipa majalis*). Більше уваги треба надавати також вивченню флори вже існуючих заповідних територій.

Аналіз розподілу локалитетів окремих видів за територіями природно-заповідного фонду свідчить, що в цілому в Одеській області охо-

роняється тільки третина (33,1 %) всіх раритетних популяцій. Лише у 21 виду під охороною знаходяться всі відомі популяції, для 40 видів рослин тільки частина локалитетів розташована у межах природно-заповідного фонду. У 14 видів охороною не охоплено 25—50% популяцій, у 16 рослин — 51—75 %, у 10 видів — 76—93 %. Це робить необхідним включення і цих локалітетів червонокнижних рослин у систему екологічної мережі Одеської області.

Таким чином, за нашими даними, 2/3 загальної кількості популяцій раритетних рослин знаходяться поза межами природно-заповідного фонду. Це свідчить про те, що сучасна мережа територій, які охороняються, не може забезпечити збереження на Одещині більшості видів Червоної книги України. Тому вкрай необхідне розширення мережі природно-заповідного фонду Одеської області, яке б відповідало розповсюдженню раритетних видів рослин і було б репрезентативним для їх збереження. Нами запропоновано саме такий перелік перспективних для заповідання територій і розробляється наукове обгрунтування для їх створення.

Література

1. *Голубец М. А., Заверуха Б. В.* Современное состояние генофонда флоры УРСР // Генетические ресурсы растений и животных Украинской ССР. — Киев: Наукова думка, 1987. — С. 9—23.
2. *Кондратюк Е. Н., Остапко В. М.* Редкие, эндемичные и реликтовые растения юго-востока Украины в природе и культуре. — Киев: Наукова думка, 1990. — 152 с.
3. *Червона* книга України. Рослинний світ. — Київ: Наукова думка, 1996. — 608 с.
4. *Попова О. М.* Судинні рослини Одеської області з Червоної книги України, світового та Європейського червоних списків // Вісник Одеського національного університету. — 2002. — Т. 7. Вип. 1. — Сер. Біологія. — С. 278—290.
5. *Биоразнообразие* Джарылгача: современное состояние и пути сохранения. — Киев: Вестник зоологии, спецвыпуск. — 2000. — 236 с.
6. *Чопик В. І.* Високогірна флора Українських Карпат. — Київ: Наукова думка, 1976. — 268 с.
7. *Mosyakin S., Fedoronchuk M.* Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist. — Kiev: 1999. — 346 p.

Е. Н. Попова

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

ул. Дворянская, 2, г. Одесса, 65026, Украина

РОЛЬ ПРИРОДНО-ЗАПОВЕДНОГО ФОНДА ОДЕССКОЙ ОБЛАСТИ В СОХРАНЕНИИ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ КРАСНОЙ КНИГИ УКРАИНЫ

Резюме

Проведен учет локалитетов видов Красной книги Украины (1996), произрастающих на территориях природно-заповедного фонда Одесской области. Выявлено, что

в настоящее время за пределами охраняемых территорий находится 2/3 популяций этих видов.

Ключевые слова: раритетные виды, Красная книга, флора, Одесская область, природно-заповедный фонд.

E. N. Popova
Odessa I. I. Mechnikov National University, Department of Botany
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

THE ROLE OF THE ODESSA REGION PROTECTED AREAS IN PRESERVATION OF THE VASCULAR PLANTS FROM THE RED DATA BOOK OF UKRAINE

Summary

The localitets of the plants from the Red Data Book of Ukraine in Odessa Region Protected Areas were counted. Now 2/3 of populations of these species are outside the protected territories.

Keywords: rare species, the Red Data Book of Ukraine, flora, the Odessa Region, the Protected Areas.

УДК 631.81.095.337:581.13

І. П. Якуба [1], асист., **Г. А. Швець** [1], канд. біол. наук, доц.,
П. О. Феоктистов [2], канд. біол. наук
[1] Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова, кафедра ботаніки, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

[2] Одеський селекційно-генетичний інститут — Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення УААН,
Овідіопольська дорога, 3, Одеса, 65036, Україна

НАКОПИЧЕННЯ МАРГАНЦЮ ЛИСТКАМИ ТА ЗЕРНОМ ТВЕРДОЇ Й М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ У ЗВ'ЯЗКУ З ЇХ БІОХІМІЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ

Вивчено накопичення марганцю листками та зерном різних сортів твердої та м'якої озимої пшениці на південному чорноземі Одещини. Показано динаміку вмісту марганцю в листках протягом вегетації та кореляційний зв'язок із вмістом хлорофілу в листках та вмістом марганцю в зерні. Врожайність сорту не пов'язана з запасом марганцю в листках. Вміст марганцю в зерні м'якої пшениці вищий, ніж у твердої, та корелює з врожайністю і вмістом крохмалю. Винос марганцю з ґрунту полів твердою пшеницею менший, ніж м'якою.
Ключові слова: марганець, озима пшениця, хлорофіл, крохмаль.

Достатня кількість марганцю є необхідною умовою нормального фізіологічного розвитку рослин та отримання високих врожаїв. Вміст у зерні марганцю як одного з необхідних для людини мікроелементів є важливим показником якості зерна. Накопичення марганцю рослиною зумовлене не тільки факторами, які впливають на його кількість і досяжність для рослин у ґрунті, але й ефективністю поглинання мікроелементу рослинним організмом. В літературі є інформація про сортові особливості накопичення марганцю різними рослинами, які утримуються в однакових умовах [1, 2]. Співробітниками Одеського технологічного інституту та Одеського селекційно-генетичного інституту показано, що вміст марганцю в зерні озимої пшениці залежить від виду та сорту [3].

Теоретичний інтерес викликає ефективність накопичення марганцю в листках рослин пшениці в онтогенезі залежно від вмісту хлорофілу та у зв'язку із перерозподілом мікроелементу з листків у колос. Практичне значення має вивчення вмісту марганцю у зерні залежно від врожайності та біохімічних показників якості зерна, а також забезпечення оптимального вмісту мікроелементу у сільгоспродукції. На південному чорноземі в умовах середньої, на межі з низькою, забезпеченістю досяжного марганцю в ґрунті вивчення ефективної здатності того чи іншого сорту поглинати марганець з ґрунту та виносити цей

© І. П. Якуба, Г. А. Швець, П. О. Феоктистов, 2004

елемент з полів із врожаєм стає особливо актуальним. Тому метою даного дослідження є вивчення вмісту марганцю в рослинах твердої та м'якої озимої пшениці в онтогенезі залежно від біохімічних показників листків та зерна, а також розрахунок кількісних витрат марганцю ґрунтом за рахунок його виносу з врожаєм.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження проведено у вересні 2001 — червні 2002 рр. на різних сортах озимої пшениці за сортовипробування на полях Одеського селекційно-генетичного інституту — Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення УААН. Розмір ділянок досліду — 10 м^2. Тип ґрунту — чорнозем південний важко суглинковий мало гумусний на лесі. Вміст валового марганцю в ґрунті — 774 мг/кг, pH водна 7,33; pH сольова 6,65. У досліді використовували 21 сорт озимої пшениці — 6 сортів твердої (*Triticum durum L.*) та 15 сортів м'якої (*Triticum aestivum L.*).

В листках верхнього ярусу пшениці протягом вегетації визначали вміст марганцю на суху речовину методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії [4] та вміст хлорофілу на сиру речовину за Арноном [5]. У зерні визначали вміст марганцю методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії [4], вміст протеїну за К'єльдалем, білкового азоту за Берштейном та крохмалю за Починком [5], розраховуваних на суху речовину. Повторність у досліді дворазова, закладка ділянок рандомізована. Повторність аналізів триразова. Обробку результатів досліду здійснювали методами варіаційної статистики [6] з використанням набору функцій MS Excel. Достовірність кореляцій показників визначали за допомогою критичного коефіцієнта кореляції r_{st} для вибірки даного обсягу, кореляцію вважали достовірною за $r \geq r_{st}$ [6].

Результати досліджень та їх аналіз

Динаміку середнього вмісту марганцю у листках верхнього ярусу рослин твердої та м'якої озимої пшениці протягом вегетації рослин показано на рис. 1. Розбіжностей у надходженні марганцю у листя озимої пшениці зазначених двох видів немає. Кількість марганцю у листі зростає протягом вегетації, досягаючи максимуму під час цвітіння. Після цвітіння вміст марганцю у флаговому листку зменшується, що можна пояснити реутилізацією цього мікроелементу з листків у колос [7]. Отримані дані дещо відрізняються від даних інших дослідників, зокрема П. А. Власюка [7], про максимальний вміст марганцю у листках пшениці під час сходів та кущіння.

Підвищення вмісту марганцю у фотосинтезуючих листках верхнього ярусу може бути зумовлене нерівномірністю метеорологічних умов польового досліду. Відомо, що весняні опади підвищують кількість досяжного для рослин марганцю в ґрунті [8]. Це полегшує поглинання мікроелементу рослинами, що у свою чергу призводить до зрос-

тання його кількості в листках у фази розвитку, які співпадають із періодом опадів.

У фазу молочно-воскової стиглості середній вміст марганцю в листках рослин м'якої пшениці був на 29,5 % вищим, ніж у листках твердої, а у фазу повної стиглості — на 25,7 % нижчим (рис. 1). Хоч варіювання значень у межах кожної вибірки досить значне (табл. 1), отримані дані свідчать про більш ефективне накопичення і більш істотний перерозподіл марганцю між листям та колосом у м'якої пшениці. Вміст марганцю у листках пшениці корелює із вмістом хлорофілу у фазах сходів, кущіння та цвітіння (табл.1). Це вказує на те, що принаймні частина марганцю в рослині у ці періоди залучається до процесів фотосинтезу. Відома роль марганцю у формуванні комплексу фотолізу води у фотосистемі II [9].

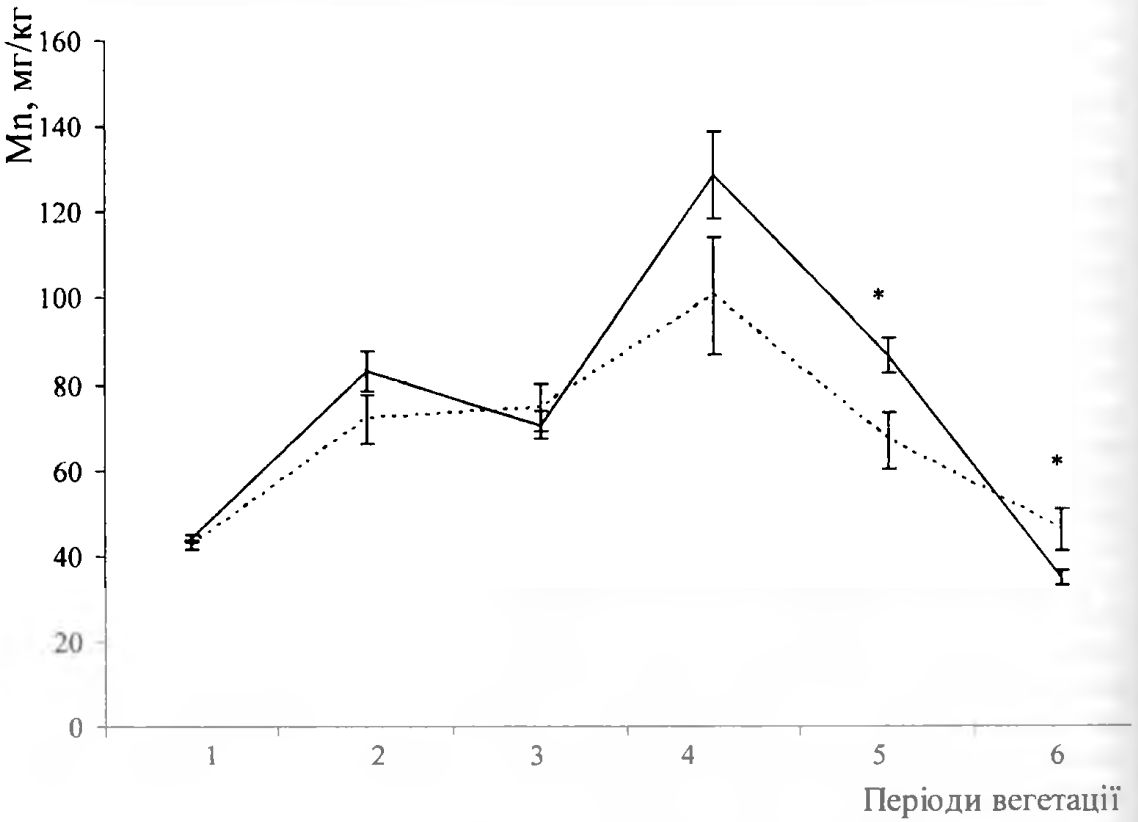


Рис. 1. Вміст марганцю в листках твердої та м'якої озимої пшениці протягом вегетації: 1 — сходи, 2 — кущіння, 3 — трубкування, 4 — цвітіння, 5 — молочно-воскова стиглість, 6 — повна стиглість.
---- Тверда пшениця, —— М'яка пшениця.

Підрахування коефіцієнту кореляції між вмістом марганцю у листках та іншими показниками на протязі онтогенезу, особливо під час колосіння, цвітіння та достигання зерна, показує, наскільки вагомим фактором у формуванні врожаю є запас мікроелементу в листках. Вміст марганцю в листках не виявляє достовірної кореляції із врожаєм (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст марганцю у листках верхнього ярусу озимої пшениці різних сортів на протязі вегетації, мг/кг

Сорт	Сходи	Кущіння	Трубкування	Цвітіння	Молочно-воскова стиглість	Повна стиглість
Тверда пшениця						
Чорномор	42.4±2.3	55.7±0.5	69,9±1,5	56,1±1.6	46,5±2,6	55,6±1,2
Жемчуг	37,9±1.8	84,9±2,6	79,5±2,5	72,3±2,9	52,1±1,0	50,4±1,3
Дончанка	45,3±2,6	60,6±5,9	74,6±2,1	119±3.5	64,8±1,3	63,1±0,9
Донський янтар	43,2±2,1	63,5±1,3	53,6±2.0	117±2,8	89,0±3,2	32,5±0.2
Леукурум 21	44,5±2,1	89,5±5,4	75,3±3,1	91,5±4,9	77,0±1,9	36,8±1,3
Дніпряна	42,4±0.6	78,2±2,8	94,8±2,1	146±3,6	72,0±1,8	38,1±2,0
Середнє	**42,6±1,1**	**72,1±5,7**	**74,6±5,5**	**100±13,6**	**66,9±6±,5**	**46,1±4,9**
М'яка пшениця						
Лузанівка	45,6±0,8	72,0±2,6	86,5±2.2	172±2,6	82,6±2,3	41,0±0,9
Альбатрос одеський	42,3±0.2	66,5±2,1	83,1±2,2	105±2,5	99,2±2,0	32,0±0.8
Обрій	39.7±1,2	66,6±0,6	69,6±2,0	81,7±6,5	72,5±3,1	38,4±1,6
Херсонська безоста	46,7±3,5	93,7±1,2	72,6±2,6	123±2,9	62,5±2,6	39,0±1,5
Уманка	39,8±2,5	69,6±1,6	75,5±2,5	99,0±3,1	65,3±2,3	51,4±1,0
Харківська 107	43,2±0,5	99,7±1,5	85,4±3,4	126±2,5	96,0±5,9	32,4±1,3
Київська 8	42,6±0,9	88,8±1,5	72,6±1,8	81,0±3.5	97,6±2,0	33,0±1,3
Миронівська 808	43,7±0,7	92,5±2,0	78.6±1.7	104±2,6	77.1±2,2	37.4±1.0
Ульянівка	45,8±1,3	109±1,9	43,9±3,9	124±6,1	93.2±2,3	32,7±0,8
Сан-Пасторе	41,5±0,5	68,8±1,8	69.4±4,2	229±6,3	123±3,1	20,6±0,9
Русалка	40,6±0,9	72,9±0,9	79,4±0,8	112±2,5	86,5±1.0	33,0±1,6
Ятрань	49,4±1.0	79,5±1,2	62,8±6,3	158±5,9	90,3±1,2	33,7±2,1
Крижинка	50,4±1.5	127±3,2	66,9±2,8	145±2,1	94,8±3,6	31,1±0,6
Перлина лісостепу	43,2±0,2	73.2±3,6	50,3±3,7	165±2,3	72,8±1,0	28.7±0,9
Зимородок	47,5±0,6	68,7±2,8	62,3±3,1	103±2,3	86,4±2,5	37,2±1,0
Середнє	**44,1±0,9**	**83,2±4,7**	**70,6±3,2**	**129±10,3**	**86,6±4,0***	**34,8±1,7***
$r_{\text{хлорофіл}}$	0,561	0,452	0,431	0,610	-	-
$r_{\text{марганець у колосі}}$	-0,054	0,151	-0,206	0.009	0,225	-0,807
$r_{\text{марганець у зерні}}$	0,106	0,239	-0,334	0,676	0,818	-0,846
$r_{\text{врожайність}}$	-0,007	0,410	0,104	0,244	0,253	-0,161

Примітка. Тут і далі: 1) * — різниця між середніми достовірна за P=0,95; ** — за P=0,99; 2) критичні значення коефіцієнту кореляції: r_{st} = 0,433 за P=0,95; r_{st} = 0,549 за P=0,99.

За даними дисперсійного аналізу вплив вмісту марганцю на врожайність у фази цвітіння та молочно-воскової стиглості складає відповідно 18,8% ± 14,3% та 18,5% ± 31,3%. Наведені дані вказують на те, що на врожайність рослин впливає не стільки запас мікроелементу у листі, скільки здатність рослин цього сорту до перерозподілу марганцю з листків у колос.

Вміст марганцю у зерні прямо корелює із вмістом його у листках верхнього ярусу у фазі цвітіння та молочно-воскової стиглості. Зворотна кореляція спостерігається у фазу повної стиглості. Це підтверджує припущення П. А. Власюка [7], що листки верхнього ярусу, і особливо флаговий листок, є джерелом марганцю для колоса, який розвивається.

Середній вміст марганцю у зерні більш вагомий у м'якої пшениці, ніж у твердої (табл. 2). Враховуючи різницю у вмісті марганцю у листках рослини на стадіях молочно-воскової та повної стиглості, можна говорити про більш ефективне накопичення марганцю м'якою пшеницею порівняно із твердою для даної сукупності сортів, що узгоджується із спостереженнями В. А. Гризо та В. М. Пильнева [10] про звичайно менший вміст мікроелементів у твердій пшениці. Проте, різниця між сортами у межах виду значно більша, ніж різниця між середніми для видів. Дисперсійний аналіз показав, що на вміст марганцю в зерні достовірно впливають як сорт пшениці (72,9% ± 25,9%), так і вид (19,3% ± 2,0%), однак вплив сорту достовірно перевищує вплив виду.

Таблиця 2

Врожайність та біохімічні показники зерна озимої пшениці різних сортів

Сорт	Вміст марганцю у зерні, мг/кг	Врожайність, ц/га	Сирий протеїн, %	Білковий азот, %	Крохмаль, %
Тверда пшениця					
Чорномор	21,3±0,9	29,1±2,3	14,0±0,1	1,75±0,01	76,8±0,2
Жемчуг	24,9±2,1	45,5±0,8	14,0±0,1	1,82±0,01	75,2±0,1
Дончанка	26,3±2,2	46,0±1,2	13,5±0,2	1,77±0,03	76,3±0,2
Донський янтар	33,2±1,7	41,6±1,2	13,4±0,1	1,75±0,03	74,3±0,2
Лєукурум 21	27,2±0,5	35,7±1,3	13,5±0,1	1,75±0,02	72,9±0,3
Дніпряна	28,8±2,1	40,4±2,1	13,8±0,2	1,73±0,03	76,0±0,2
Середнє	**26,9±1,1**	**39,7±1,8**	**13,7±0,2**	**1,76±0,02**	**75,3±0,4**
М'яка пшениця					
Лузанівка	28,1±2,9	44,5±2,0	11,4±0,2	1,53±0,06	76,9±0,3
Альбатрос одеський	33,8±5,4	46,0±1,4	13,2±0,1	1,69±0,02	74,8±0,2
Обрій	32,0±5,5	49,8±1,6	13,8±0,1	1,75±0,03	74,0±0,2
Херсонська безоста	28,2±0,8	39,7±1,8	12,1±0,1	1,62±0,05	78,5±0,2
Уманка	26,5±2,2	47,0±1,5	12,3±0,0	1,65±0,02	78,1±0,1
Харківська 107	32,2±3,5	56,0±1,3	12,3±0,1	1,63±0,03	74,3±0,4
Київська 8	32,7±0,3	40,0±1,3	12,4±0,1	1,67±0,02	75,2±0,1
Миронівська 808	28,2±0,9	35,3±2,0	13,4±0,2	1,79±0,01	73,3±0,2
Ульянівка	33,0±1,9	43,5±2,1	14,1±0,2	1,84±0,04	75,0±0,3
Сан-Пасторе	42,0±1,6	41,2±0,5	14,1±0,2	1,89±0,03	72,3±0,5
Русалка	32,1±4,4	44,2±1,0	13,0±0,0	1,75±0,06	74,6±0,4
Ятрань	31,2±3,8	42,0±1,3	12,8±0,0	1,65±0,03	76,8±0,8
Крижинка	36,5±3,1	57,7±1,6	12,7±0,1	1,73±0,02	75,7±0,6
Перлина лісостепу	37,3±1,6	45,0±0,9	13,7±0,1	1,75±0,03	74,2±0,5
Зимородок	27,7±0,4	31,0±0,8	13,2±0,0	1,75±0,02	75,2±0,1
Середнє	**32,1±1,6***	**44,2±2,6**	**12,9±0,1***	**1,71±0,01**	**75,2±0,6**
$r_{\text{марганець у зерні}}$		0,438	0,083	0,243	-0,515

Вміст марганцю в зерні у межах вибірки має достовірну позитивну кореляцію із врожайністю (табл. 2). Це може вказувати на ідентичність або подібність умов, які впливають на продуктивність та накопичення марганцю тим чи іншим сортом.

Вміст сирого протеїну в зерні твердої пшениці виявився у середньому на 5,6% вищим (табл. 2), ніж у м'якої, кількість протеїну у межах даної вибірки сортів не корелює із вмістом марганцю в зерні.

Вміст марганцю в зерні має достовірно високий негативний коефіцієнт кореляції із вмістом крохмалю у зерні (табл. 2), що є досить закономірним, бо кількість зольних елементів зерна зворотно пропорційна вмісту крохмалю у ньому [11]. Таку ж закономірність спостерігали В. А. Гризо та В. М. Пильнев [3], які вказують на зниження вмісту марганцю у високоврожайних сортів з низьким вмістом білка, оскільки врожайність пшениці зростає в першу чергу за рахунок маси ендосперму та накопичення крохмалю [12].

Різні сорти м'якої пшениці характеризуються більшим середнім виносом марганцю із врожаєм — на 32,2 % вищим, ніж твердої (табл. 3).

Таблиця 3

Винос марганцю з грунту зерном озимої пшениці різних сортів

Вид	Сорт	Винос марганцю з врожаєм. г/га
Тверда	Чорномор	62,0
	Жемчуг	113,3
	Дончанка	121,0
	Донський янтар	138,1
	Леукурум 21	97,1
	Дніпряна	116,4
	Середнє	**107,9±10,6**
М'яка	Лузанівка	125,0
	Альбатрос одеський	155,5
	Обрій	159,4
	Херсонська безоста	112,0
	Уманка	124,6
	Харківська 107	180,3
	Київська 8	130,8
	Миронівська 808	99,55
	Ульянівка	143,6
	Сан-Пасторе	173,0
	Русалка	141,9
	Ятрань	131,0
	Крижинка	210,6
	Перлина лісостепу	167,9
	Зимородок	85,9
	Середнє	**142,7±8,4***

Більш суттєий винос марганцю з грунту із врожаєм м'якою пшеницею пов'язаний головним чином із високою врожайністю м'яких сортів.

Висновки

1. На протязі вегетації вміст марганцю в листках озимої пшениці зростає від фази сходів до цвітіння та знижується від цвітіння до повної стиглості.
2. У фазі молочно-воскової стиглості вміст марганцю в листках м'якої пшениці більший, ніж у твердої, у фазу повної стиглості — навпаки. Вміст марганцю в зерні м'якої пшениці вищий, ніж у твердої.
3. Вміст марганцю в листках корелює із вмістом хлорофілу.
4. Кількість мікроелементу в зерні має позитивну кореляцію із вмістом марганцю в листках у фазах цвітіння й молочно-воскової стиглості, а також з врожайністю. Негативна кореляція спостерігається між вмістом марганцю в зерні та вмістом його в листках у фазі повної стиглості, а також із вмістом крохмалю у зерні.
5. Винос марганцю з ґрунту полів твердою пшеницею менший, ніж м'якою.

Література

1. *Черняхова И. П., Костин М. А.* Сортовые особенности поглощения микроэлементов просом на различных питательных фонах // Микроэлементы в биосфере и их применение в сельском хозяйстве и медицине Сибири и Дальнего Востока (Докл. IV Сибирской конф. 11—14 июля 1972 г., г. Барнаул). — Улан-Удэ: Бурят. филиал СО АН СССР, 1973. — С. 203—208.
2. *Sanada U. S., Samal D., Claassen N.* Differences in manganese efficiency of wheat (Triticum aestivum L.) and raya (Brassica juncea L.) as related to root — shoot relations and manganese influx // Journal of plant nutrition and soil science. — 2003. — Vol. 166, iss. 3. — P. 385—389.
3. *Гризо В. А., Пыльнев В. М., Шилова Л. И., Порчелли М. Д., Орлова В. И., Брик Л. Д., Богачева Н. Д., Шкловский И. Ш.* Особенности микроэлементного состава зерна различных озимых культур // Микроэлементы в окружающей среде. — К.: Наук. думка. 1980. — С. 123—127.
4. *Standard* Operating Procedures for Trace Metals Determination // TASIS Chemistry Workshop on the Analysis of Trace Metals in Biological and Sediment Samples. — UkSCES, Odessa, 1999. — 45 p.
5. *Методы* биохимического исследования растений / А. И. Ермаков, В. В. Арасимович, Н. П. Ярош и др.; Под ред. А. И. Ермакова. — 3-е изд., перераб. и доп. — Л.: Агропромиздат, Ленингр. отд-ние, 1987. — 430 с.
6. *Доспехов Б. А.* Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). 3-е изд., перераб. и доп. — М.: Колос, 1973. — 336 с.
7. *Власюк П. А., Климовицкая З. Н.* Физиологическое значение марганца для роста и развития растений. — М., Колос, 1968. — 162 с.
8. *Макеев О. В., Сеничкина М. Г.* Содержание микроэлементов в почве в тение вегетационного периода // Микроэлементы в биосфере и их применение в сельском хозяйстве и медицине Сибири и Дальнего Востока (Докл. II Сибирской конф. 28 нояб. — 1 дек. 1964 г., г. Красноярск). — Улан-Удэ: Бурят. филиал СО АН СССР, 1967. — С. 99—110.

9. *Кочубей С. М.* Организация фотосинтетического аппарата высших растений. — К.: Альтерпрес, 2001. — 204 с.
10. *Пыльнев В. М., Гризо В. А., Порчелли М. Д.* Роль селекции в изменении содержания макро- и микроэлементов в зерне озимой мягкой пшеницы // Микроэлементы в окружающей среде. — К.: Наук. думка. 1980. — С. 149—153.
11. *Пыльнев В. М., Гризо В. А., Шилова Л. И., Порчелли М. Д., Брик Л. Д.* Изменчивость содержания минеральных элементов в зерне озимых культур // Микроэлементы в обмене веществ и продуктивности растений. — К.:Наук. думка, 1984. — С. 191—194.
12. *Yiping Tong,Zdenko Rengel,Robin D.* Graham Interactions Between Nitrogen and Manganese Nutrition of Barley Genotypes Differing in Manganese efficiency // Annals of Botany. — 1997. — Vol. 79. — P. 53—58.

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

Одеський селекционно-генетический институт — Национальний центр семеноведения и сортоизучения УААН,
Овидиопольская дорога, 3, Одесса, 65036, Украина

НАКОПЛЕНИЕ МАРГАНЦА ЛИСТЬЯМИ И ЗЕРНОМ ТВЕРДОЙ И МЯГКОЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В СВЯЗИ С ИХ БИОХИМИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ

Резюме

Изучено накопление марганца листьями и зерном разных сортов твердой и мягкой озимой пшеницы на южном черноземе Одесщины. Показана динамика содержания марганца в листьях на протяжении онтогенеза и корреляционная связь с количеством хлорофилла и марганца в зерне. Урожайность сорта не связана с запасом марганца в листьях. Содержание марганца в мягкой пшенице выше, чем в твердой, и коррелирует с урожайностью и содержанием крахмала. Вынос марганца из почвы полей твердой пшеницей меньше, чем мягкой.

Ключевые слова: марганец, озимая пшеница, хлорофилл, крахмал

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

Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations, UAAS
3 Ovidiopolska Doroga, Odessa, 65036, Ukraine

STORING OF MANGANESE BY LEAVES AND SEEDS OF TRITICUM DURUM L. AND TRITICUM AESTIVUM L. IN RELATION TO THEIR BIOCHEMICAL PARAMETERS

Summary

Storing of manganese by leaves and seeds of different cultivars of hard and soft winter wheat was studied on the southern blacksoil of Odeska region. The dynamic

changes of the manganese content in leaves were established and its correlation with the chlorophyll and manganese content in seeds was proved. The yielding capasity of a cultivar is not related to the manganese store in leaves. The content of manganese in soft wheat seeds is higher than in hard wheat and it correlates with the yield and the starch content. The uptake of manganese from the field soil is higher for soft wheat.

Keywords: manganese, winter wheat, chlorophyll, starch.

ГЕНЕТИКА І ЦИТОЛОГІЯ

УДК 577.222:595

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

ЧАСТОТА МЕЙОТИЧНОЇ РЕКОМБІНАЦІЇ НА ДІЛЯНЦІ CN — VG ХРОМОСОМИ 2 *DROSOPHILA MELANOGASTER* ЗА ДІЇ РТУТІ НА ОРГАНІЗМ

Вивчена залежність накопичення ртуті у тканинах та частота кросинговеру на ділянці cn-vg хромосоми 2 дрозофіли від вмісту сульфату ртуті у поживному середовищі. Виявлено максимально допустиме накопичення ртуті у тканинах мух, за якого можливий їх розвиток. За годування мух на протязі одного покоління кормом з сульфатом ртуті у концентрації 0,1 мМ суттєво зменшується їх плодючість і виникає статистично достовірне підвищення частоти кросинговеру.

Ключові слова: дрозофіла, кросинговер, накопичення ртуті, плодючість.

Серед важких металів, забруднюючих довкілля, особливої уваги заслуговує генотоксична дія ртуті. Це пояснюється, з однієї сторони, поширеністю цього забруднювача у природі [1], з іншої — його високою генотоксичністю [2]. Показано, що ртуть є сильним мутагеном, який індукує хромосомні аберації, анеуплоїдії і поліплоїдії у рослин, тварин і людини [3]. Ртуть чи її етилхлорид гранозан за їх наявності у кормі дрозофіли викликають домінантні летальні мутації в гаметах [4]. Проте поза увагою залишилося розуміння дії ртуті на інший тип спадкової мінливості — комбінаційну. Одним із джерел комбінаційної мінливості є мейотична рекомбінація. Остання призводить до змін генного балансу, що може негативно позначатися на життєздатності нащадків [5]. З іншого боку, зміни генного балансу є обов'язковою умовою формування генотипової адаптації, яка досягається шляхом добору генотипів з адаптаційними [6, 7] та коадаптованими [8] комплексами генів, що забезпечують пристосованість організмів до певних умов довкілля [9]. Вважається, що частота кросинговеру в значній мірі визначає швидкість зміни генофонду популяцій, а, отже, ефективність еволюційного процесу [10].

Метою даного дослідження було вивчення накопичення ртуті в організмі D. melanogaster, а також змін плодючості та частоти мейотичної рекомбінації на ділянці cn-vg у дрозофіли в залежності від вмісту іонів ртуті у поживному середовищі.

© Н. Г. Гандірук, В. М. Тоцький, І. В. Ланцман, 2004

Матеріали і методи

Для вивчення генотоксичної дії ртуті на організм дрозофіли використовували мух дикого типу Canton S, мутантів по локусах cinnabar і vestigial, а також подвійних мутантів за цими ж локусами (cn, vg). Експериментально визначили ту максимально допустиму концентрацію сульфату ртуті у поживному середовищі, яка не подавляє розвиток дрозофіли і становить 0,1 мМ. Мух утримували на поживних середовищах з сульфатом ртуті у цій та у десять і сто разів менших концентраціях протягом усього їх життєвого циклу. Таким чином, піддослідні самки, на відміну від контрольних, знаходились у період мейотичного поділу їх оогоній і можливого кросинговеру на поживних середовищах, що містить ртуть у кінцевих концентраціях 0,001, 0,01 та 0,1 мМ. Для визначення вмісту ртуті у тканинах використовували чутливий спектрофотометричний метод, який дозволяє визначати сліди ртуті у біологічних об'єктах. В основі методу лежить утворення комплексних сполук іонів ртуті з дитизоном та поглинання ними світла з довжиною хвилі 500 нм. До гомогенату наважки 50 мг мух у 2 мл 0,1 М ацетатного буфера pH 5,0 добавляли 2 мл 1 %-ного розчину ЕДТА. Екстракцію іонів ртуті провадили 0,001%-ним розчином дитизону у CCl_4. Органічну фракцію використовували для спектрофотометрії. Концентрацію ртуті вираховували за побудованою калібрувальною кривою. Частоту кросинговеру визначали по числу особин рекомбінантних класів, отриманих в аналізуючому схрещуванні дигетерозигот за маркерними генами cn, vg і виражали в процентах від загальної кількості нащадків [11].

Отримання дигетерозигот, постановку аналізуючого схрещування та облік кросоверних класів здійснювали за загальноприйнятими схемами [11, 12]. Плодючість мух визначали як кількість лялечкових пупаріїв у потомстві однієї самки, що відкладала яйця протягом трьох діб.

Результати дослідження та їх аналіз

Виявлено, що у імаго дрозофіли покоління F_1, яке розвивалося на поживному середовищі з сульфатом ртуті, остання накопичується в організмі (табл. 1). Ступінь накопичення ртуті у тканинах дрозофіли істотно залежить від її концентрації у поживному середовищі.

Відомо, що вміст ртуті у тваринному чи людському організмі складає від 0,002 до 0,02 мг % на сиру вагу різних органів тіла [14,15], а вміст ртуті у поверхневих шарах ґрунту становить 0,14—1 мг/кг (0,005—0,03 мМ) [1]. Нами встановлено, що за концентрації ртуті у кормі 0,001 мМ її вміст у тканинах мух дикого типу C-S становить 0,017 мг %. Отже, за незначних концентрацій ртуті у поживному середовищі її рівень в організмі дрозофіли не перевищує фізіологічну норму. Збільшення кількості ртуті у кормі в десять разів (до 0,01 мМ) призводить до збільшення її вмісту в тканинах мух у 1,3—2,2 рази, залежно від генотипу. Слід відмітити, що зазначений рівень

ртуті в організмі дрозофіли істотно не впливає на досліджувані показники плодючості та мейотичної рекомбінації (табл. 2).

Таблиця 1

Вміст ртуті у тканинах різних ліній дрозофіли за наявності сульфату ртуті у поживному середовищі, мг %

Концентрація ртуті у середовищі, мМ	Досліджувані лінії		
	C - S	cn	vg
0.001	0,017± 0,002	0,012 ±0,002	0,034 ± 0,003
0,01	0,024 ± 0,002	0.016 ±0,002	0,077 ±0,012
0,1	0.181 ±0,021*	0,117 ±0,020*	0,210 ±0,029*

Примітка: * — різниця достовірна порівняно з мінімальною концентрацією

Таблиця 2

Залежність частоти кросинговеру на ділянці cn-vg хромосоми 2 дрозофіли та її плодючості від вмісту ртуті у поживному середовищі

Концентрація ртуті у середовищі, мМ	Частота кросинговеру		Плодючість мух	
	сМ	% відхилення від контролю	Число нащадків	% відхилення від контролю
Контроль	9,40 ±1,41	-	94,6 ±8.1	-
0.001	9,91 ±1,19	5,4	82,7 ± 6,6	-12,6
0,01	10,89 ±1,29	15,8	101,0 ±5,7	+6,7
0,1	13,25 ±1,14*	40,9	56,6 ± 4,5 *	-40,2

Примітка: * — різниця достовірна порівняно з контролем

Хронічне надходження ртуті в організм дорослих мух за вмісту її у кормі в концентраціях 0,1 мМ призводить до значного накопичення сполук ртуті у тканинах дрозофіли. Ця концентрація ртуті у поживному середовищі є максимальною, за якої можливий розвиток мух, оскільки подальше збільшення ртуті у поживному, середовищі призводить до їх загибелі. За цієї максимально допустимої концентрації ртуті у поживному середовищі вміст ртуті в тканинах мух підвищується в залежності від їх генотипу у 6,1—10,5 разів.

Таким чином, можна зробити висновок, що ртуть разом з селеном, цезієм, берилієм, свинцем та іншими ультрамікроелементами входить до складу живих організмів у дуже незначних кількостях. Однак вміст ртуті в тканинах організму не постійний і може значно змінюватися під впливом факторів довкілля, накопичуючись до токсичного рівня. Токсичність ртуті в умовах наших дослідів проявлялася змен-

шенням плодючості мух на 40,2% порівняно з контрольними мухами, яких утримували на поживному середовищі без ртуті. Отримані дані співпадають з результатами [4], які свідчать про те, що відповідні концентрації ртуті у поживному середовищі здатні індукувати домінантні летальні мутації у дрозофіли. Нами виявлено, що максимально допустима концентрація ртуті у поживному середовищі призводить до зростання частоти кросинговеру на ділянці cn-vg хромосоми 2 дрозофіли на 40,9% порівняно з контролем.

Механізм підвищення частоти кросинговеру ртуттю не з'ясований, але відомо [3, 4], що ртуть безпосередньо ушкоджує ДНК, призводячи як до точкових мутацій, так і до хромосомних аберацій, зокрема хромосомних та хроматидних розривів. Саме такі ушкодження ДНК можуть сприяти підвищенню частоти кросинговеру.

Таким чином, враховуючи поширення у природі цього токсиканту (міститься у технічних матеріалах, неочищеній нафті і т. п.), останній може призводити до підвищення не тільки мутаційної, але й комбінаційної мінливості організмів і тим самим сприяти добору певних, пристосованих до забруднення ртуттю, генотипів. У повній відповідності з цим припущенням в літературі є дані про наявність добору у ссавців на один із ферментів енергетичного обміну — фосфогліцеромутазу, високочутливу до появи ртуті у середовищі [16].

Висновки

1. Встановлено генотипові особливості накопичення іонів ртуті в тканинах різних ліній дрозофіли в залежності від їх концентрації у поживному середовищі.
2. За максимально допустимої концентрації ртуті у поживному середовищі значно зменшується плодючість, але підвищується мейотична рекомбінація у мух.

Література

1. *Биологическая* роль микроэлементов. / Под редакцией Ковальского В. В., Воротницкой И. Е. — М.: Наука, 1983. — 238 с.
2. *Маркарян Д. С.* Вопросы гигиенического нормирования при изучении отдаленных последствий воздействия промышленных веществ. — М.: Медицина, 1972. — С. 24—40.
3. *Бигалиев А. Б.* Генетический эффект солей тяжелых металлов как загрязнителей окружающей среды // Успехи современной генетики. — 1982. — Вып. 10. — С. 104—114.
4. *Лекьявичус Р. К.* Химический мутагенез и загрязнение окружающей среды. — Вильнюс: Мокслас, 1983. — 223 с.
5. *Хаустова Н. Д., Алшибли Н. М., Тоцкий В. Н., Блажнова Е. В.* Частота рекомбинаций как показатель генного баланса и приспособленности дрозофилы // Вісник ОНУ. — 2003. — Т. 8, випуск 1. — С. 86—91.
6. *Алшибли Н. М., Хаустова Н. Д., Тоцкий В. Н.* Частота рекомбинаций на участке b-cn-vg хромосомы 2 Drosophila melanogaster в зависимости от генотипа и возраста мух // Вісник ОНУ. — 2001. — Т. 6, випуск 1. — С. 45—50.
7. *Тоцкий В. Н., Хаустова Н. Д., Гандирук Н. Г.* Генный баланс и адаптация природных и искусственно созданных генотипов Drosophila melanogaster // Труды по фунд. и прикл. генетике — Харьков: Штрих, 2001. — С. 140—151.

8. *Тоцкий В. Н., Хаустова Н. Д., Алшибли Н. М., Сечняк А. Л.* Генетико-биохимические механизмы онтогенетической и филогенетической адаптации // Цитология и генетика. — 2002. — Т. 36, № 3. — С. 69—75.
9. *Жученко А. А., Король А. Б.* Рекомбинация в эволюции и селекции. — М.: Мир, 1989. — 105 с.
10. *Жученко А. А., Король А. Б.* Увеличение частоты кроссинговера в популяции при отборе на устойчивость к температурным колебаниям // Докл. Акад. наук СССР. — 1983. — Т. 273, № 3. — С. 721—725.
11. *Тоцький В. М., Гандірук Н. Г., Ланцман І. В.* Життездатність і частота кросинговеру на ділянці b-cn хромосоми 2 у Drosophila melanogaster за вмісту солей важких металів у поживному середовищі // Вісник ОНУ. — 2003. — Т. 8, випуск 1. — С. 75—80.
12. *Медведев Н. Н.* Практическая генетика. — М.: Наука, 1968. — 293 с.
13. *Тоцький В. М.* Генетика. — Одеса: Астропринт, 2002. — 710 с.
14. *Войнар А. О.* Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. — М.: Наука, 1960. — 282 с.
15. *Ковальский В. В.* Микроэлементы в жизни растений и животных. — М.: Наука, 1952. — С. 30—42.
16. *Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э., Хилл Р., Ломан И.* Основы биохимии. — М.: Мир, 1981. — С. 572—574.

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

ЧАСТОТА МЕЙОТИЧЕСКОЙ РЕКОМБИНАЦИИ НА УЧАСТКЕ CN-VG ХРОМОСОМЫ 2 DROSOPHILA MELANOGASTER ПРИ ДЕЙСТВИИ РТУТИ НА ОРГАНИЗМ

Резюме

Изучена зависимость накопления ртути в тканях и частота кроссинговера на участке cn-vg хромосомы 2 дрозофилы от содержания сульфата ртути в питательной среде. Установлено максимально допустимое накопление ртути в тканях мух, при котором еще возможно их развитие. Питание мух на протяжении одного поколения кормом с сульфатом ртути в концентрации 0,1 мМ существенно снижает их плодовитость и достоверно повышает частоту кросинговера на участке cn-vg.

Ключевые слова: дрозофила, кроссинговер, накопление ртути, плодовитость.

N. G. Gandiruk, V. N. Totskiy, I. V. Lantsman
Odessa National University, Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya St. 2, Odessa, 65026, Ukraine

FREQUENCY OF MEYOTICAL RECOMBINATION IN THE SECTION CN-VG CHROMOSOME 2 OF DROSOPHILA MELANOGASTER UNDER THE INFLUENCE OF MERCURY ON THE ORGANISM

Summary

The dependency of accumulation of mercury in tissues and frequency of recombinations in the section cn-vg chromosome 2 of Drosophila with the content of

hydrargirum sulphate in the nutrient medium has been studied. The most admissible accumulation of mercury in the tissues permittingdrosophila development has been established.

Nutrition of flies with fodder keeping sulphate of mercury in concentration of 0,1 mM for period of one generation lowers essentially their fertibility, but the and frequency of crossingover raises for sure.

Keywords: drosophila, crossingover, accumulation of mercury, fertibility.

УДК: 575:633.15:113:027.2

О. О. Дерев'янко[1], асп., **Н. Е. Кожухова** [1], канд. біол. наук,
О. В. Бабаянц [2], канд. біол. наук, **Ю. М. Сиволап** [1], докт. біол. наук, академік УААН.
[1] Південний біотехнологічний центр у рослинництві УААН и МОНУ, Овідіопольська дор., 3, Одеса, 65036, Україна; e-mail: natavolk@rambler.ru

[2] Селекційно-генетичний інститут УААН, Овідіопольська дор., 3, Одеса, 65036, Україна

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ПОПУЛЯЦІЙ *FUSARIUM SPP.* ПІВДЕННОГО РЕГІОНУ УКРАЇНИ

Здійснено ISSR- і ДП-ПЛР аналіз міжвидового та внутрішньовидового поліморфізму грибів роду *Fusarium*. Рівень поліморфізму серед видів *Fusarium* — 100 %, в межах вибірки *F. moniliforme v. lactis* — 49 % і *F. gibbosum v. acuminatum* — 48 %, що свідчить про широку мінливість досліджуваного об'єкту. В цілому не відзначено відповідності між кластеризацією штамів за даними ДНК-профілювання і рівнем патогенності, хоч і спостерігається така тенденція при розгляді окремих кластерів.
Ключові слова: ПЛР-аналіз, між- та внутрішньовидовий поліморфізм, *F. moniliforme v. lactis*, *F. gibbosum v. acuminatum*

Давно відомою, але до цього часу не вирішеною є проблема втрат урожаю від фузаріозу (до 50 %), що викликається грибами роду *Fusarium*. Зростаюче з кожним роком зниження кількості і якості врожаю, а також підвищення вірогідності отруєння людини [1] і тварин [2] мікотоксинами, що знаходяться в їжі, інфікованій цими грибами, вимагає все більш поглибленого вивчення фузаріозів, вияв яких знаходиться в залежності від зовнішніх чинників, від генотипів рослин, і, головне, від генотипів фузаріївих грибів.

На наш погляд, необхідно знати загальний потенціал патогенності, закладений в генетичному матеріалі, який дозволяє прогнозувати можливу шкідливість фітопатогенів і розробити надійні заходи боротьби з ними. Потенціал патогенності можна виявити шляхом вивчення молекулярно-генетичного поліморфізму за допомогою методів, основаних на профілюванні ДНК, зокрема шляхом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) [3—5]. Використання молекулярних маркерів дозволяє виявити і оцінити структуру генетичних локусів досліджуваних організмів — грибів роду *Fusarium* — на будь-якій стадії їх розвитку з високою точністю і відносно швидко [6].

Мета нашої роботи полягала у вивченні молекулярно-генетичної різноманітності популяцій *Fusarium spp.*, що вражають злакові культури південного регіону України. Виходячи з поставленої мети, визначили наступні задачі: з'ясувати міжвидовий поліморфізм грибів роду

© О. О. Дерев,янко, Н. Е. Кожухова, О. В. Бабаянц, Ю. М. Сиволап, 2004

Fusarium; вивчити внутрішньовидовий поліморфізм *F. moniliforme v. lactis*, як найбільш шкідливого для кукурудзи (*Zea mays* L.), і *F. gibbosum v. acuminatum*.

Матеріал і методи дослідження

Штами *Fusarium*. Матеріалом для дослідження міжвидового поліморфізму слугували вісім видів і шість різновидів грибів роду *Fusarium*, належних до різних секцій (секція *Discolor*: *F. gibbosum v. acuminatum, F. gibbosum v. bullatum, F. graminearum, F. culmorum, F. macroceras; секція Elegans: F. moniliforme v. lactis, F. moniliforme v. subglutinans, F. oxysporum v. orthoceras*; секція *Sporotrichiella: F. sporotrichiella v. tricinctum; секція Roseum: F. avenaceum*) і один вид вищих грибів — *Pleurotus ostreatus* (контроль). Внутрішньовидовий поліморфізм вивчали на вибірці, що включає 18 штамів *F. moniliforme v. lactis* (Pir. et Rib.) Bilai (номери та характеристика штамів: *st13, st50/x* — непатогенні; *st52, st55, st118/1, st118/2, 34/17, m/z, kk* — слабкопатогенні; *st53* — помірнопатогенний; *st202, st266, kl* — патогенні; *st82, st54, st82/5, st94m, st122* — високопатогенні) і 18 штамів *F. gibbosum v. acuminatum* (El. et Ev.) Bilai, виділені в чисту культуру з інфікованих качанів кукурудзи і зерен пшениці [7]. Всі штами вирощували з однієї конідії. Кожний штам досліджували в трьох повторюваннях, тобто досліджували три моноспорові культури, вирощені на картопляному агарі (на 1 л води — 500 г картоплі, 10 г цукру, 20 г агару, pH 4,7) протягом 14 діб при 24 °С.

Виділення ДНК з міцелію проводили згідно CTAB-протоколу [8].

ISSR-ПЛР здійснювали на ампліфікаторі "Терцик" ("ДНК-технологія", Росія) в наступному режимі: початкова денатурація — 94 °С, 2 хв; далі 30 циклів: 94 °С, 30 сек; 55 °С, 30 сек; 72 °С, 1 хв; заключна елонгація — 72 °С, 2 хв.

ДП-ПЛР (довільно праймована ПЛР) проводили на тому ж приладі, але при більш м'якій температурі відпалу: початкова денатурація — 93 °С, 2 хв; 30 циклів: 93 °С, 30 сек; 52 °С, 30 сек; 72 °С, 1 хв; заключна елонгація — 72 °С, 2 хв.

Реакційна суміш об'ємом 20 мкл містила: буфер (50 mM KCl, 20 mM трис-HCl pH 8,4 (25 °С), 4 mM $MgCl_2$, 0,01 % твин-20); 0,2 mM кожного dNTP; 0,2 mkM праймера; 20 нг ДНК; 1 одиницю ДНК-полімерази Taq. На реакційну суміш нашаровували 20 мкл мінерального масла.

Кодування і послідовності (5' > 3') праймерів наступні: P58 — GAGGGGTTCGAGGCC; P74 — TAGCCTATTGGGCCGCCC; P76 — CCCACAAAGAAAGCAATGG; P90 — CTGGGGTTGGTTCTGG; P93 — GGGTGGCGTGGGGTG; G — $(GA)_9C$; F82 — $(GCAG)_4$; F83 — $(CTC)_2(TCC)_2ACGATCAC$; F84 — $(GAG)_6$; F85 — $(GAC)_6$.

Електрофоретичний розподіл продуктів ампліфікації провадили в горизонтальному "підводному" 2 % агарозному гелі розміром 20,0 × 15,0 × 0,5 см в приладі фірми "Hoefer Scientific Instruments"

(США) в ТВЕ-буфері при 55 В 3 години за кімнатної температури. ДНК візуалізували фарбуванням бромистим етидієм; гелі фотографували з використанням світлофільтру ОС-12 в ультрафіолетовому світлі (300 нм) на плівку "Мікрат-300". Електрофоретичні профілі ампліфікованої ДНК оцінювали візуально і кодували бінарно: наявність/відсутність смуги позначали "1"/"0" відповідно. Відеозображення електрофоретичних профілів ампліфікованої ДНК одержували за допомогою системи документації і аналізу електрофорезних гелів Image Master VDS ("Amersham Pharmacia Biotech", Великобританія).

Кластерний аналіз. Встановлення генетичних дистанцій згідно коефіцієнту SM і графічну побудову дендрограми генотипів на основі даних електрофоретичного розподілу продуктів ампліфікації здійснювали за допомогою комп'ютерної програми "TREE 4.0" [9].

Рівень поліморфізму оцінювали у відсотках як відношення поліморфних ПЛР-ампліконів до загального числа ПЛР-ампліконів, що детектують.

$P = n_p / n_p + n_{np} \times 100\ \%$, де n_p — число поліморфних ПЛР-ампліконів, а $n_{пр}$-число неполіморфних ПЛР-ампліконів.

Результати досліджень та їх обговорення

Вивчення міжвидового поліморфізму грибів роду *Fusarium*

Використання ПЛР з 10 одиничними праймерами дозволило унікально диференціювати досліджені зразки. Спектри ампліфікації ДНК включали від 22 до 40 компонентів, середнє число яких склало 30,1 на праймер. Проаналізовано 1270 ампліконів (115,45 — середня кількість ампліконів, що генерується при використанні одного праймера). Враховували тільки мажорні фрагменти, відтворювані за повторної ампліфікації. Міжвидовий поліморфізм склав 100 %. В роботі Xu R. та ін. [5] по вивченню міжвидової різноманітності рівень поліморфізму між *F. acuminatum, F. avenaceum, F. culmorum і F. graminearum* склав 95 %.

За сумарними даними ПЛР-аналізу проведено розрахунок генетичних дистанцій і кластеризація досліджених видів (рис. 1). Значення генетичних дистанцій варіювали від 0,210 до 0,626. Генетична подібність між *F. culmorum* і *F. graminearum* склала 50 %, тоді як в роботі Xu R. та ін. [5] — 80 %. Найменший ступінь подібності спостерігали у видів *F. graminearum* і *F. macroceras*. Максимальну величину генетичної дистанції визначено між *Pleurotus ostreatus* і кластером, об'єднуючим всі види і різновиди *Fusarium*, що демонструє розподіл відділу грибів на вищі і нижчі.

Кластеризація штамів за даними ПЛР-аналізу в основному співпадає з результатами очікуваного згруповування штамів по секціях (рис. 1).

На попередньому етапі роботи досліджували по одному штаму певних видів і різновидів. В подальшому для відображення цілісної картини молекулярно-генетичного "стану" популяцій у конкретній

еколого-географічній зоні вибірку штамів збільшували. При розширенні внутрішньовидової вибірки (по 18 штамів кожного виду) виявлено значне варіювання в межах *F. gibbosum v. acuminatum* і *F. graminearum* і відносну однорідність *F. moniliforme v. lactis* і *F. oxysporum v. orthoceras* (дані не приведені).

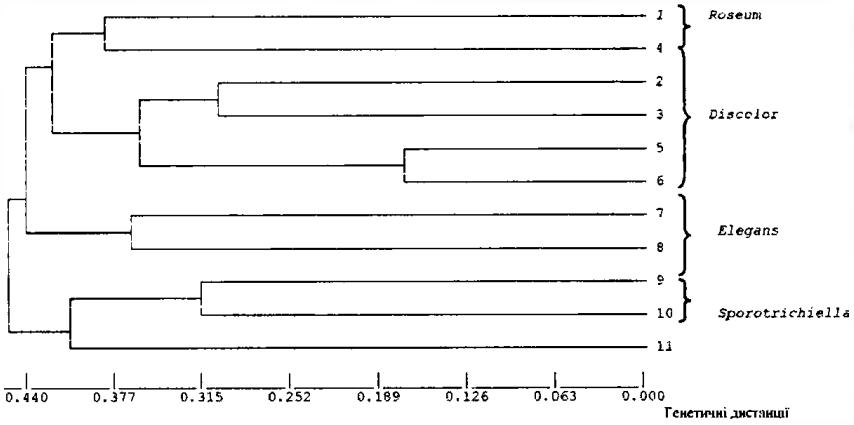


Рис. 1. Дендрограма молекулярно-генетичної подібності між видами і різновидами грибів роду *Fusarium*. 1 — *F. avenaceum*, 2 — *F. culmorum*, 3 — *F. gibbosum v. acuminatum*, 4 — *F. gibbosum v. bullatum*, 5 — *F. graminearum*, 6 — *F. macroceras*, 7 — *F. moniliforme v. lactis*, 8 — *F. moniliforme v. subglutinans*, 9 — *F. oxysporum v. orthoceras*, 10 — *F. sporotrichiella v. tricinctum*, 11 — *Pleurotus ostreatus*

Таким чином, для з'ясування міжвидових молекулярно-генетичних взаємостосунків необхідне вивчення внутрішньовидового поліморфізму з метою виявлення найбільш типових представників для еталонних досліджень і для оцінки мінливості кожного виду і різновиду.

Вивчення внутрішньовидового поліморфізму *F. moniliforme v. lactis*

Внутрішньовидову молекулярно-генетичну різноманітність *F. moniliforme v. lactis* досліджували на прикладі восьми штамів, що розрізняються рівнем патогенності. Використання ПЛР з восьмома довільними праймерами дозволило диференціювати досліджені штами. Спектри ампліфікованої ДНК включали від чотирьох до десяти компонентів, середня кількість ПЛР-фрагментів на праймер склала 7,1. Проаналізовано 199 ампліконів, із яких 191 — поліморфні.

На дендрограмі досліджених штамів *F. moniliforme v. lactis* утворилися два кластери (рис. 2).

В перший кластер входить субкластер, що містить два слабкопатогенних штами *st52* і *st55* і штам — стимулятор росту сільськогосподарських рослин (штам *st13*). Крім того, перший кластер має один помірнопатогенний штам *st41*. У другому кластері знаходяться два високопатогенних штами *st82* і *st122* і один штам *st53* з середнім рівнем патогенності, який вище такого у помірнопатогенного штаму

st41, що знаходиться в першому кластері. В жоден кластер не ввійшов високопатогенний штам *st81*, який виявляв максимальну дистанцію від решти штамів. Кластеризація штамів за даними ПЛР-аналізу взагалі співпадала з результатами очікуваного згруповування штамів за рівнем патогенності.

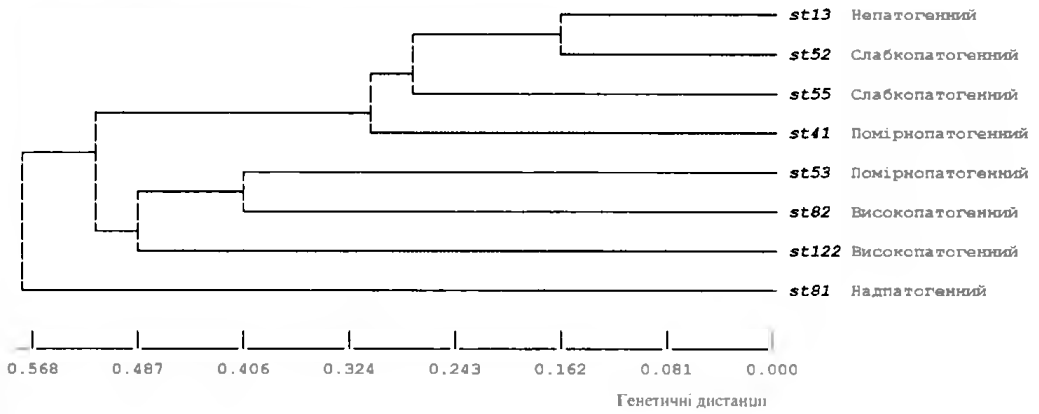


Рис. 2. Дендрограма феногенетичних взаємовідносин штамів *Fusarium moniliforme*, побудована за даними ПЛР-аналізу. *st13, st52, st55, st41, st53, st82, st122, st81* — номери досліджених штамів

Проте при подальшому збільшенні вибірки до 18 штамів *F. moniliforme v. lactis* використання тих самих восьми праймерів не виявило зазначеного згруповування штамів за рівнем патогенності. Дендрограма (рис. 3), що ілюструє генетичні дистанції в межах вибірки даного різновиду фузаріївих грибів, містить кластер, який складається з двох субкластерів: перший з непатогенними штамами *st13* і *st50/x*, слабкопатогенним — *st52*, а також із штамом помірної патогенності *st53*; в другий субкластер входять 13 штамів з різними показниками патогенності, що не асоціюють з показниками генетичних дистанцій.

У кластері відображена істотна внутрішньовидова мінливість. Рівень поліморфізму серед штамів кластера склав 49,4 %. У дослідженні ізолятів *Fusarium moniliforme* з різних регіонів Ulrik F. Schlacht і ін. [10] за допомогою RAPD-ПЛР рівень поліморфізму варіював від 3 до 53 %. Найбільш віддаленим від інших виявився штам *st82/5*, якому властивий дуже високий рівень патогенності. Таке саме явище спостерігалося при дослідженні вибірки з восьми штамів: *st81* є дуже високопатогенним і генетично найбільш віддаленим від інших штамів (рис. 2). Максимальне значення генетичної дистанції (0,492) серед 18 досліджених штамів виявлено для *st82/5* — штаму, що призводив до загибелі 100 % паростків, і *kl* — патогенного штаму; мінімальне (0,025) — для *kk* і *kl*, слабкопатогенного і патогенного відповідно.

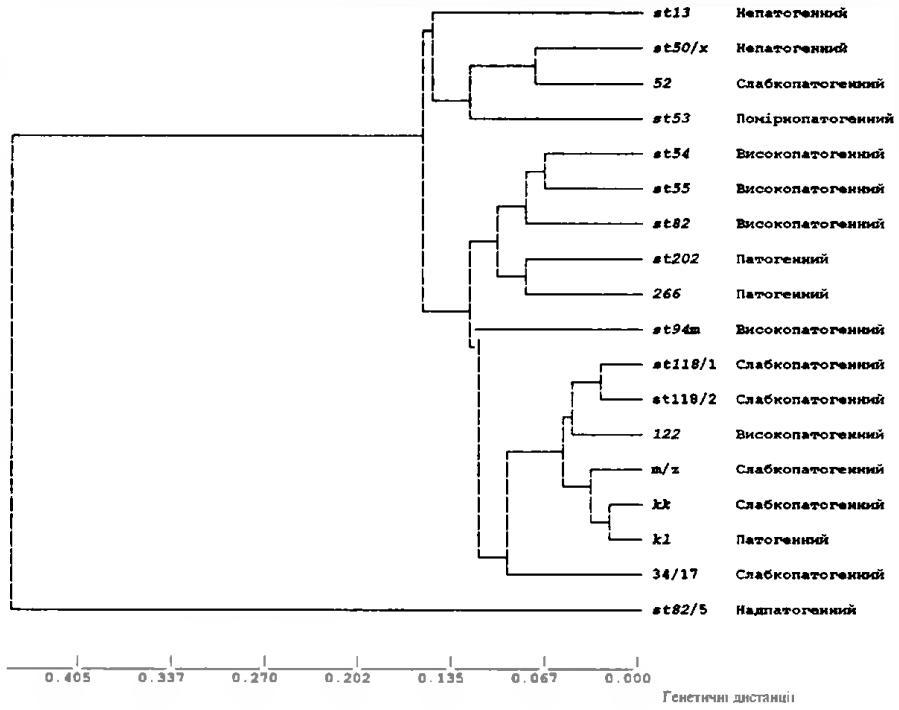


Рис. 3. Дендрограма феногенетичних взаємовідносин 18 штамів *Fusarium moniliforme*: *st13, st50/x, st52, st55, st118/1, st118/2, 34/17, m/z, kk, st53, st202, st266, kl, st82, st54, st82/5, st94m, st122*

Проведено аналогічні дослідження 18 штамів *F. gibbosum v. acuminatum*, але чіткого згруповування штамів за патогенністю не знайдено. Рівень поліморфізму склав 48 %. В результатах досліджень Xu R. і ін. [5] цей показник дорівнював 46 %, що пов'язано з меншим розміром вибірки (три ізоляти) за інших однакових умов.

Вивчення міжвидової і внутрішньовидової різноманітності за допомогою ISSR- і ДП-ПЛР дозволило встановити високий рівень поліморфізму як серед видів *Fusarium* (100 %), так і в межах вибірки одного виду (49 % для *F. moniliforme v. lactis* і 48 % для *F. gibbosum v. acuminatum*), що свідчить про широку мінливість досліджуваних об'єктів.

Висновки

Рівень поліморфізму серед видів *Fusarium* — 100 %, в межах вибірки *F. moniliforme v. lactis* — 49 % і *F. gibbosum v. acuminatum* — 48 %, що свідчить про широку мінливість досліджуваного об'єкту. В цілому не відзначено відповідності між кластеризацією штамів за даними ДНК-профілювання і рівнем патогенності, хоч і спостерігається така тенденція при розгляді окремих кластерів.

Література

1. *Gelderblom W., Semple E., Marasas W. and Farber E.* Cancer-initiating potential fumonisin B mycotoxins // Carcinogenesis. — 1992. — V. 13. — P. 433—437.
2. *Спесивцева Н., Хмелевский Б.* Санитария кормов. — М.: Колос, 1975. — 336 с.
3. *Schiling A. G., Moller E. M., Geiger H. H.* Polymerase chain-based assays for species — specific detection *Fusarium culmorum, F. graminearum and F. avenaceum* // Phytopdthology. — 1996. — V. 86. — P. 515—522.
4. *Szecsi, Moller E.* Differentiation Hungarian isolates three Fusarium species from section Liseola RAPD analysis // Food Mycol. — 1998. — V. 1 № 4. — P. 219—227.
5. *Xu R., Wolters P., Snijders C.* RAPD fingerprinting six Fusarium species causing Fusarium blight in cereals and grasses // Proceedings International Symposium on wheat improvement for scab resistance. 5—11 May 2000. Suzhou and Nanjing, China. — P. 200—210.
6. *Булат С., Мироненко Н.* Идентификация грибов и анализ их генетической изменчивости методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с геноспецифичными и неспецифичными праймерами // Генетика. — 1996. — Т. 32, № 2. — С. 165—183.
7. *Билай В. И., Элланская И. А.* Метод микрокультуры для получения типичного конидиеобразования у фузариев // Микология и фитопатология. — 1975. — Т. 9. — С. 74—76.
8. *Moller E., Bahnweng G., Sandermann H. and Geiger H.* Simple and efficient protocol for isolation high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies, and infected plant tissues // Food Mycol. — 1998. — V. 1. — P. 6115—6116.
9. *Календарь Р.* Компьютерная программа для построения эволюционных деревьев на основе электрофореграмм ДНК и белков // Доклады междунар. конф. "Молекулярно-генетические маркеры и селекция растений". — Киев. — 1994. — С. 25—26.
10. *Ulrike F. Schlacht, Evelyn M. Moller, and Hartwig G. Geiger* Genetic diversity *Gibberella fujikuroi* isolaters from different geographic origins / Proceedings fifth European *Fusarium* seminar. Szeged, Hungary, 29 August - 5 September. — 1997. — Vol. 25 № 3/1. — P. 557—560.

О. А. Деревянко [1], Н. Э. Кожухова [1], О. В. Бабаянц [2], Ю. М. Сиволап [1]
[1] Южный биотехнологический центр в растениеводстве УААН и МОНУ,
Овидиопольская дор. 3, Одесса, 65036, Украина

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

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИЙ *FUSARIUM SPP.* ЮЖНОГО РЕГИОНА УКРАИНЫ

Резюме

Проведён ISSR- и ПП-ПЦР анализ меж- и внутривидового полиморфизма грибов рода *Fusarium*. Это исследование позволило установить высокий уровень молекулярно-генетического полиморфизма как среди видов *Fusarium* (100 %), так и внутри выборки вида (49 % для *F. moniliforme v. lactis* и 48 % для *F. gibbosum v. acuminatum*).

Ключевые слова: ПЦР-анализ, меж- и внутривидовой полиморфизм *F. moniliforme v. lactis, F. gibbosum v. acuminatum.*

O. A. Derevyanko [1], N. E. Kozhukhova [1], O. V. Babayants [2], Yu. M. Sivolap [1]

[1] South Plant Biotechnology Center UAAN,
Ovidiopolskaya Dor. 3, Odessa, 65036 Ukraine

[2] Plant Breeding and Genetics Institute,
Ovidiopolskaya Dor. 3, Odessa, 65036 Ukraine

MOLECULAR-GENETIC ANALYSIS OF *FUSARIUM SPP.* POPULATIONS OF THE SOUTH OF UKRAINE

Summary

The ISSR- and AP-PCR analysis of inter- and intraspecific polymorphism of *Fusarium spp.* is carried out. This research allows to determine the high level of molecular-genetic polymorphism both in *Fusarium spp.* — 100 % and within species (49 % for *F. moniliforme v. lactis* and 48 % for *F. gibbosum v. acuminatum*).

Keyword: PCR-analysis, inter- and intraspecific polymorphism, *F. moniliforme v. lactis*, *F. gibbosum v. acuminatum*.

УДК 57.044:575.16:546.95

І. Л. Рижко, асп., **О. М. Андрієвський**, канд. біол. наук, доц.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра генетики та молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна
E-mail: kira_ril@mail.ru

ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER* В УМОВАХ ДІЇ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Вивчали зміну деяких показників життєздатності *Drosophila melanogaster* (плодючості, елімінації нащадків, темпу розвитку, стресорезистентності) на тлі впливу солей важких металів. Порівнювали вплив солей металів на дві інбредні лінії дрозофіли — Normal та Меллер-5.
Ключові слова: життєздатність, солі важких металів, дрозофіла.

Проблема забруднення навколишнього середовища з кожним днем стає все гострішою, а важкі метали є однією з причин забруднення. Тому все більше уваги надається проблемі впливу екзогенних факторів (у даному випадку — важких металів) на організм. Ушкоджуюча дія важких металів визначається значною мірою їхньою здатністю змінювати структуру і функції ДНК [1, 2, 3]. У зв'язку з цим викликає інтерес вплив солей важких металів на деякі показники життєздатності та онтогенетичного розвитку модельного об'єкта — дрозофіли.

Солі металів, взяті в різних концентраціях, можуть виявляти як активуючий, так і інгібуючий вплив на плідність і життєздатність організму. Високі концентрації солей важких металів здатні викликати летальний вплив.

Використовуючи лабораторні інбредні лінії *Drosophila melanogaster*, досліджували деякі показники життєздатності мух на тлі токсичної дії солей важких металів. Реальну репродуктивну здатність визначали за кількістю лялечок, що утворилися; відзначали зсув у термінах розвитку личинок, лялечок і імаго в дослідних мікропопуляціях у порівнянні з контрольними, знаходили дози токсичності і летальності для обраних катіонів на різних стадіях онтогенезу.

Таким чином, метою даної роботи було експериментальне вивчення впливу солей важких металів на показники життєздатності *Drosophila melanogaster* в онтогенезі.

Матеріали і методи

Для проведення даної роботи використовували дві інбредні лінії *Drosophila melanogaster* — Normal і Меллер-5, які відрізняються забарвленням тіла й очей (мухи дикого типу — сіре тіло, коричнево-червоні очі, мухи лінії Меллер-5 — жовте тіло, абрикосові очі). Крім

© І. Л. Рижко, О. М. Андрієвський, 2004

того, X — хромосома мух лінії Меллер-5 містить дві інверсії — sc^8 і δ^{49}, які цілком виключають кросинговер між статевими хромосомами самиць. Обидві інверсії не пов'язані з рецесивною летальною дією [4, 5, 6]. В усіх випадках використовували тільки синхронізований матеріал: личинки, лялечки й імаго 3-денного віку, яких у кожному варіанті експерименту отримували шляхом схрещування 50 самиць з 50 самцями однієї загальної популяції.

Розвиток досліджуваних мікропопуляцій мух проходив на стандартному поживному середовищі з додаванням солей металів, взятих у різних концентраціях [3, 4]. Солі металів (хлористий кадмій, хлористий кобальт, хлористу мідь та сульфатний цинк) у вигляді водного розчину вводили у поживне середовище (в об'ємі 25 мл) одноразово з метою одержання кінцевих концентрацій солей від 0,05 до 2,06 мМ. Контрольні мухи розвивалися на поживному середовищі без додавання солей металів.

Реальну плодючість визначали за кількістю лялечок, що утворилися за тих чи інших індивідуальних умов. Виживаність оцінювали по числу імаго, що вилуплювались із загального числа лялечок. З метою з'ясування ступеня впливу солей важких металів на показники плідності і виживаності дрозофіли приймали кількість лялечок і імаго у контрольних мух за 100 %. У ході роботи визначали зміни в термінах розвитку дослідних популяцій у порівнянні з контрольними, знаходили дози токсичності і летальності для досліджуваних солей металів, що діяли на різних стадіях ембріонального і постембріонального розвитку дрозофіли.

Отримані дані піддавали статистичній обробці [7]. Представлені в роботі рисунки отримували з використанням комп'ютерної програми "Excel".

Результати досліджень та їх аналіз

В ході роботи оцінювали виживаність нащадків за кількістю імаго, що утворилися із загального числа лялечок. Однак в окремих випадках під впливом солей важких металів кількість імаго перевищувала кількість підрахованих лялечок. З'ясувалося, що цей ефект пов'язаний із затримкою розвитку дрозофіли на стадії личинки — лялечки. На час спостереження частина лялечок не була зрілою, а тому не враховувалась, але подальший розвиток їх значно прискорювався, через що кінцева кількість імаго виявлялася більш високою, ніж кількість зареєстрованих лялечок.

Для оцінки дії солей важких металів порівнювали кількість дослідних лялечок і імаго в досліді і контролі, приймаючи кількість лялечок і імаго контролю за 100 %.

У результаті проведених досліджень нами встановлено наступне: сіль $CdCl_2$ викликає асинхронію (одночасно спостерігалися і личинки, і лялечки, і імаго) і затримку на 3 доби у розвитку дрозофіл ліній Normal та Меллер-5. Незначна концентрація солі кадмію у поживно-

му середовищі мух дикого типу (0,06 мМ) приводила до підвищення показників репродуктивної здатності у порівнянні з контролем, однак вже при цій мінімальній концентрації були помітні асинхронія і затримка в розвитку нащадків. Крім того, на тлі підвищення плодючості відзначено зниження показника виживаності дрозофіли. Якщо кількість лялечок була на 24 % вищою, ніж у контрольних варіантах, то кількість імаго — на 44 % нижчою; при цьому виживаність склала лише 43 %, у той час як у контролю — 96 %. З підвищенням концентрації солі в середовищі відзначалося зниження показника плідності і відсотка виживаності нащадків (рис. 1, *а*).

Необхідно зазначити, що мухи дикого типу виявилися більш стійкими до мінімальних добавок хлористого кадмію у порівнянні з мухами лінії Меллер-5.

Однак, якщо за концентрацій від 0,87 мМ до 1,53 мМ у мутанта (рис. 2, *а*) ще спостерігалася поява імаго (хоч зі значними затримками розвитку), то для мух дикого типу розвиток нащадків припинявся на поживному середовищі з добавкою солі при концентрації 0,87 мМ на стадії лялечки, а при концентрації 1,1 мМ — навіть на стадії личинки.

При підвищенні концентрації хлористої міді (рис. 2, *б*) у поживному середовищі від 0,1 мМ відзначалося поступове зниження показника плідності у мутантної лінії Меллер-5 (загибель імаго коливалася в межах від 2 % до 20 %). При концентрації солі 1,24 мМ розвиток мух припинявся на стадії личинки; концентрація 1,44 мМ повністю пригнічувала ембріогенез, однак при концентраціях 1,65; 1,86 і 2,06 мМ знову з'являлися нащадки. За концентрацій 1,65 і 1,86 мМ нащадки проходили всі стадії розвитку, хоч і були відзначені асинхронія і затримка розвитку; при концентрації 2,06 мМ утворювалися тільки личинки, розміри яких були набагато меншими розмірів контрольних личинок. Лялечки за цих умов вже не утворювалися.

Результати, отримані при дослідженні дії солі $CuCl_2$ на показники життєздатності дрозофіл лінії Normal трохи відрізняються (рис. 1, *б*). Насамперед слід підкреслити, що в зв'язку з асинхронністю розвитку нащадків кількість імаго в розрахунковий час перевищувала кількість зареєстрованих лялечок. Якщо при концентрації 0,1 мМ показники репродуктивної активності і загибелі імаго приблизно дорівнювали показникам контрольних мух, то концентрації 0,21 і 0,41 мМ викликали різке підвищення показника реальної плідності (загибель імаго коливалася від 0 % до 8 % у залежності від концентрації солі). Подальше підвищення концентрації солі Cu у поживному середовищі викликало поступове зниження плідності (середня загибель імаго складала 0—5 %). При концентрації 1,24 мМ припинявся розвиток мух на стадії лялечки, а при концентрації 1,44 мМ — на стадії яйця. Як і у випадку лінії Меллер-5, за концентрації 1,65 мМ знову спостерігалася поява потомства, яке проходило всі стадії розвитку, однак при концентрації 1,86 мМ всі мухи гинули.

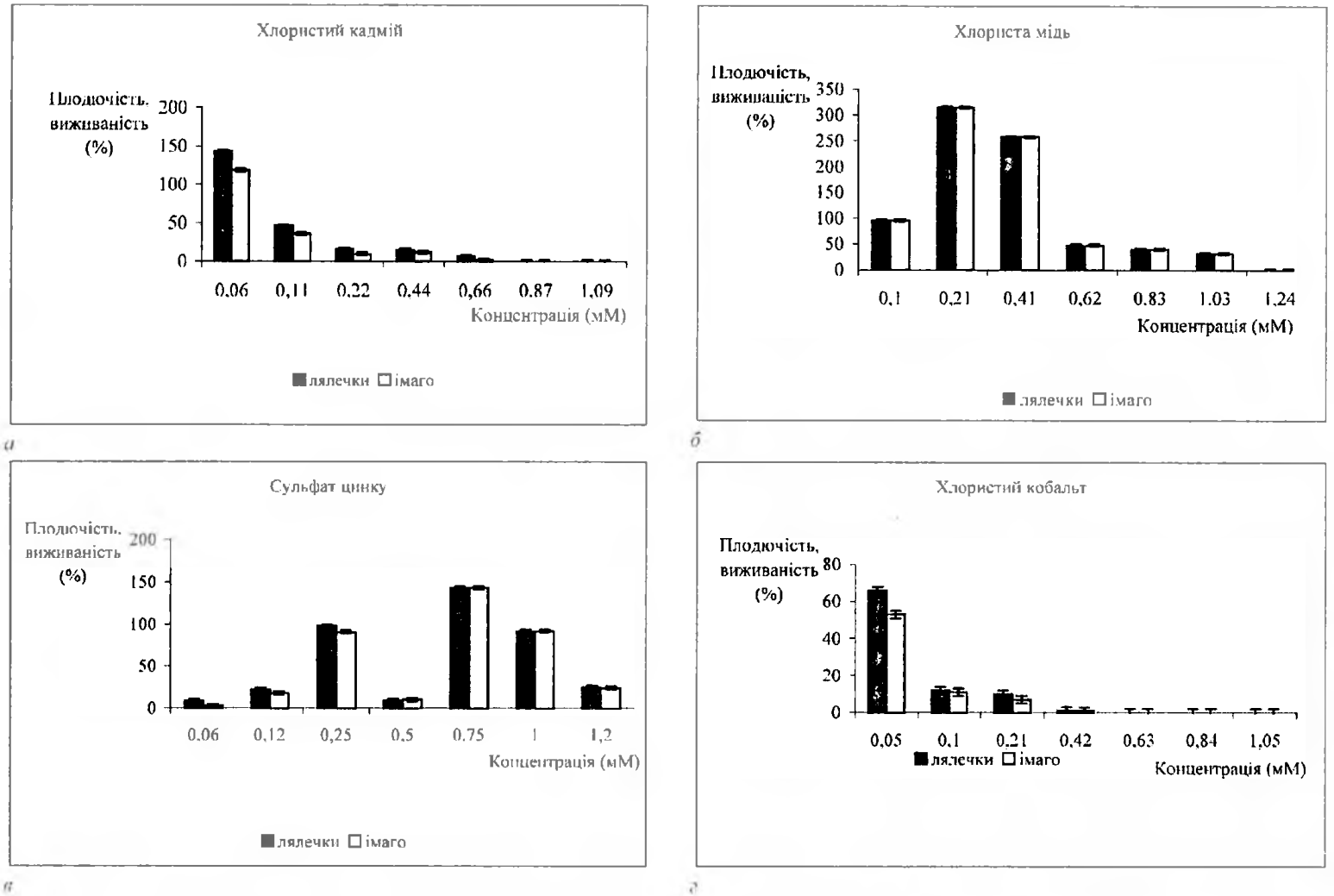


Рис. 1. Реальна плодючість та виживаність мух лінії Normal під впливом солей важких металів

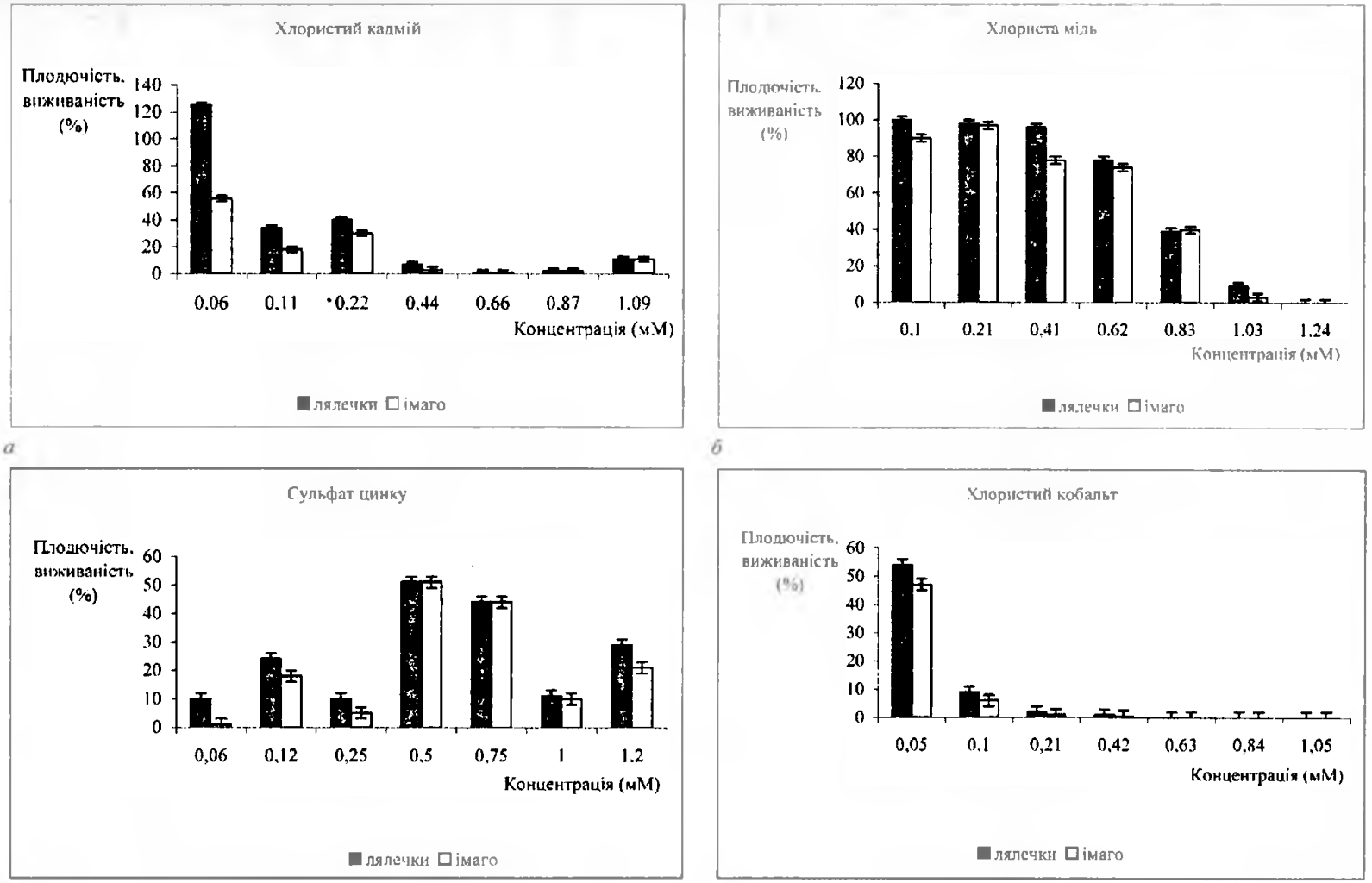


Рис. 2. Реальна плодючість та виживаність мух лінії Меллер-5 під впливом солей важких металів

Додання сульфату Zn у поживне середовище призводило до пригнічення плідності мух лінії Меллер-5, причому за концентрацій від 0,06 до 0,25 мМ ефект гноблення виявлявся сильнішим, ніж за концентрацій 0,5, 0,75 і 1,2 мМ. Загибель імаго складала від 4 % до 90 % у залежності від концентрації солі в кормі (рис. 2, *в*).

При доданні $ZnSO_4$ у поживне середовище мух лінії Normal (рис. 1, *в*) спостерігали пригнічення плідності (як і у випадку лінії Меллер-5). Однак за концентрації 0,75 мМ кількість лялечок на 35 %, а імаго — на 43 % була вищою, ніж у контролі. Загибель імаго коливалася в залежності від концентрації хімічних агентів в межах від 8 % до 67 %.

Сіль хлористого кобальту викликає затримку й асинхронію розвитку ліній Normal (рис. 1, *г*) і Меллер-5 (рис. 2, *г*), а, крім того, впливає на плідність дрозофіли. З підвищенням концентрації солі в поживному середовищі цей ефект підсилюється. Концентрація солі кобальту в кормі 0,6 мМ є летальною для мух обох ліній.

В роботі використовували хлориди (хлористий кадмій, хлористий кобальт, хлористу мідь), за виключенням сульфату цинку. Всі зазначені метали є двовалентними, молекулярні маси солей досить близькі, тому ми припускаємо, що за зміну показників життєдіяльності відповідальні саме катіони. Доказом цього може слугувати те, що при мінімальній концентрації солі у поживному середовищі (0,05 мМ) показники плодючості та виживаності дрозофіли змінювалися по-різному для досліджуваних солей.

Висновки

1. Солі важких металів справляють токсичний вплив на живий організм (починаючи з концентрації 0,05 мМ).
2. Солі кадмію та міді в невеликих концентраціях можуть приводити до підвищення показника плідності, в той час як сіль кобальту навіть при низькому вмісті у середовищі виявляє гнітючий вплив на цей показник.
3. З підвищенням концентрації всі солі важких металів викликають спочатку зниження життєздатності дрозофіли, а при подальшому підвищенні концентрації справляють летальний вплив.
4. Зміну показників життєдіяльності дрозофіли спричиняють іони важких металів.

Література

1. *Тоцький В. М., Гандірук Н. Г., Ланцман І. В.* Життєздатність і частота кросинговеру на ділянці b-cn хромосоми 2 у Drosophila melanogaster за вмісту солей важких металів у поживному середовищі // Вісник ОНУ. — 2003. — Т. 8. — Вип. 1. — С. 75—80.
2. *Бигалиев А. Б.* Генетический эффект солей тяжелых металлов как загрязнителей окружающей среды // Успехи современной генетики. — 1982. — Вип. 10. — С. 104—114.

3. *Андрієвський О. М., Рижко І. Л., Радіонов О. О.* Фізіолого-біохімічні показники в онтогенезі дрозофіли за впливу солей металів // Вісник ОНУ. — 2003. — Т. 8. — Вип. 1. — С. 9—18.
4. *Медведев Н. Н.* Практическая генетика. — М.: Наука, 1968. — 294 с.
5. *Тоцький В. М.* Генетика. — Одеса: Астропринт, 2002. — 710 с.
6. *Проблемы* генетики в исследованиях на дрозофиле. / Под редакцией В. В. Хвостовой. — Новосибирск.: Наука, 1977. — 278 с.
7. *Плохинский Н. А.* Алгоритмы биометрии. — М.: Изд.-во МГУ, 1980. — 150 с.

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

ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ DROSOPHILA MELANOGASTER В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Резюме

Изучали изменение некоторых показателей жизнеспособности *Drosophila melanogaster* (плодовитости, элиминации потомства, темпа развития, стрессорезистентности) на фоне воздействия солей тяжелых металлов. Сравнивали воздействие солей металлов на две инбредные линии дрозофилы — Normal и Меллер-5.

Ключевые слова: жизнеспособность, соли тяжелых металлов, дрозофила.

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

VITABILITY OF DROSOPHILA MELANOGASTER IN CONDITIONS OF THE HEAVY METALS SALTS ACTION

Summary

The change of some vital functional factors of *Drosophila melanogaster* (vitability, posterity elimination, rate of development, stress tolerance) on the background of the influence of the heavy metals salts has been studied. The influence of the metals salts on two inbreeding lines of drosophila — Normal and Meller-5 has been compared.

Keywords: vitability, salts of heavy metals, drosophila.

УДК 633.11:575.153

О. Л. Січняк [1], канд. біол. наук, доц., **Т. А. Мандриченко** [1], асп.,
В. І. Файт [2], канд. біол. наук, зав. від.
[1] Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, каф. генетики та молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна, e-mail: caphgen@ukr.net

[2] Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення, відділ генетики,
Овідіопольська дор., 3, Одеса, 65036, Україна, e-mail: fayt@paco.net

ЕФЕКТИ АЛОПЛАЗМ НА МОРОЗОСТІЙКІСТЬ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ПІСЛЯ ВЕСНЯНОГО ВІДНОВЛЕННЯ ВЕГЕТАЦІЇ

Дослідження, проведені на алоплазматичних лініях трьох сортів озимої м'якої пшениці показали, що існують суттєві впливи цитоплазми на ознаку морозостійкості рослин. Більшість з цих впливів спрямована на зниження морозостійкості. Прояв цих ефектів у значній мірі залежить від взаємодії цитоплазми з ядерними геномами, а також від стадії онтогенезу.
Ключові слова: пшениця, егілопс, алоплазма, морозостійкість

Дикі співродичі пшениці давно і безумовно вважаються донорами стійкості до абіотичних факторів довкілля, зокрема до негативних температур. Доведено, що пирій, жито, елімус можуть бути джерелами генів для поліпшення зимо- та морозостійкості пшениці [1, 2]. Однак при цьому існує проблема сумісності хромосом виду-донора з цитоплазмою м'якої пшениці. Прояв ознак жита, в т. ч. і зимостійкості, у тритикале подавляється цитоплазмою пшениці. Хромосоми жита в новому для них середовищі (цитоплазмі пшениці) частково інактивуються. Ймовірно, ця інактивація торкається і генів зимостійкості [3]. Вважають, що найбільш повна реалізація генів морозостійкості жита за віддаленої гібридизації можлива в її власній цитоплазмі [4].

Наявність реципрокних ефектів дає підставу припускати участь цитоплазматичних генів у генетичній детермінації морозостійкості озимої пшениці та тритикале [5]. При використанні тритикале як проміжної ланки для переносу в пшеницю генів, обумовлюючих морозостійкість жита, були виявлені суттєві цитоплазматичні ефекти [6, 7].

Вивчення холодо- і морозостійкості у пшенично-чужорідних амфіплоїдів, а також їх гібридів з пшеницею показало, що ці ознаки контролюються як адитивними, так і домінантними генами [8—10]. В останній час суттєво зросла увага до використання цитоплазм D-типу для селекції пшениці на зимостійкість та морозостійкість [11]. Разом з тим стверджувалося, що цитоплазма має незначний прямий ефект на експресію генів, які визначають холодостійкість [12]. Проведені

© О. Л. Січняк, Т. А. Мандриченко, В. І. Файт, 2004

нами [13] дослідження морозостійкості пшениці та її алоплазматичних ліній показали, що на стадії паростків існують суттєві цитоплазматичні впливи на морозостійкість пшениці. Відомо, що однією з причин масової загибелі озимих є повернення холодів і навіть суттєвих морозів після відновлення вегетації. Виходячи з цього, метою представленої роботи було вивчення ефектів алоплазм на морозостійкість озимої м'якої пшениці після відновлення весняної вегетації.

Матеріали та методи

Досліджували морозостійкість алоплазматичних ліній трьох сортів озимої м'якої пшениці (табл. 1), які були створені у Миронівському НДІ пшениці та люб'язно надані їх автором — В. А. Власенко. Лінії були висіяні у широкорядному посіві (30 × 5 см^2) на експериментальній ділянці. Наприкінці зими 2002 року (6 березня), після тривалої відлиги з кожної ділянки викопували по 20—30 рослин, відмивали коріння від землі та здійснювали проморожування в паперових пакетах при −11°С [14]. Після відтаювання рослини відрощували у оранжереї фітотрону при 10—14°С і через два тижні провадили оцінку. Статистичну обробку виконували методом двофакторного дисперсійного аналізу без повторів [15]. Для цього процент рослин, які не загинули після проморожування, перерахували за формулою: $\varphi = 2\arcsin\sqrt{p}$.

Результати і обговорення

Проведений двофакторний дисперсійний аналіз довів суттєвий вплив ($P \leq 0{,}05$) цитоплазм диких співродичів пшениці на рівень морозостійкості алоплазматичних ліній трьох сортів озимої м'якої пшениці. Однак, на відміну від проморожування паростків [13], при дослідженні морозостійкості рослин, взятих наприкінці зими в полі, еуплазматичні лінії пшениць Миронівська 808 та Миронівська Ювілейна повністю вимерзли, так що морозостійкість еуплазматичних ліній в цілому виявилась істотно ($P \leq 0{,}01$ і $P \leq 0{,}05$) нижчою від багатьох алоплазматичних ліній (табл. 1). Ми пов'язуємо це з тим, що еуплазматичні лінії швидше реагують на перехід до позитивних температур відновленням вегетації, внаслідок чого вони сильніше вражаються негативними температурами.

При проморожуванні паростків не вдалося встановити інтегрального впливу алоплазми на морозостійкість в усіх трьох наборах алоплазматичних ліній [13]. Ефекти алоплазм при взаємодії з різними ядерними геномами були сильними і різноспрямованими. В теперішньому дослідженні вдалося встановити такі ефекти. При цьому найвища морозостійкість виявилася у ліній з алоплазмою *Aegilops sharonensis* (52,1 % живих рослин), найнижча — у ліній з алоплазмою *Aegilops vavilovii* (7,3% живих рослин).

Слід зазначити, що наприкінці зими ефекти багатьох алоплазм щодо морозостійкості рослин були іншими, ніж на стадії паростків. Однак лінії з алоплазмою від *Aegilops sharonensis* в цей період проявляли лише незначно зменшену морозостійкість, тобто мали стійко середню морозостійкість (59,5 % на стадії паростків і 52,1 % на стадії кущіння). Це дуже цікавий результат, бо за даними багаторічних випробувань в різних географічнх точках [16] *Aegilops sharonensis* виявився одним з найбільш нестійких зразків і майже повністю вимерзав в усіх досліджуваних районах. Серед помірно стійких були *Aegilops tauschii* та *Aegilops cylindrica*, однак всі досліджені зразки поступалися морозостійкістю м'якій пшениці Миронівська 808, яка використовувалася як стандарт. Отже, можна припустити, що плазмон деяких нестійких зразків може при взаємодії з ядерним геномом пшениці забезпечувати певний рівень морозостійкості.

Таблиця 1

Морозостійкість алоплазматичних ліній пшениці у залежності від джерела плазми та ядерного геному (% рослин, що не загинули після проморожування)

Джерело цитоплазми	Ядерний геном			В середньому	$НСР_{0,05}$
	Донська напівінтенсивна	Миронівська 808	Миронівська Ювілейна		
Haynaldia villosa	44,4	25,0	72,7	47,4	
Aegilops squarrosa var. *strangulata*	30,0	25,0	33,3	29,4	
Aegilops squarrosa var. *typica*	5,0	0	40,9	15,3	
Aegilops comosa	5,0	-	25,0	15,0	
Aegilops speltoides.	9,1	-	38,9	24.	
Aegilops sharonensis	-	65,0	39,1	52,1	
Aegilops cylindrica.	33,3	33,3	16,7	27,8	
Aegilops kotschyi	22,2	8,3	50,0	26,8	
Aegilops variabilis	10,0	38,1	31.8	26,6	
Aegilops ventricosa	12,5	19,0	14.8	15,4	
Aegilops juvenalis	46,2	41,7	16,7	34.9	
Aegilops vavilovii	0	12,0	10,0	7,3	
Triticum dicoccoides	13,0	4,5	14,8	10,8	
Triticum dicoccum	20,0	30,4	42.9	31,1	
Triticum aestivum cv. Chinese Spring	37,5	0	0	12.5	
В середньому	20,6	23,3	29,8	-	11,0
$НСР_{0,05}$				2,6	-
$НСР_{0,01}$				4,5	-

При дослідженні морозостійкості на стадії паростків ми знайшли, що деякі алоплазми в поєднанні з конкретними ядерними геномами здатні позитивно впливати на морозостійкість [13], однак у більшості випадків чужорідні цитоплазми суттєво знижували стійкість пшениці до негативних температур. Отримані в цьому досліді результати формально вказують на істотно ($P \leq 0,05$ і навіть $P \leq 0,01$) вищу морозостійкість алоплазматичних ліній у порівнянні з еуплазматичними. Однак слід брати до уваги вищевикладене щодо більш швидкого відновлення вегетації еуплазматичними лініями, внаслідок чого вони виявляли значне зниження морозостійкості. Отже, можна вважати справедливим твердження, що більшість алоплазм негативно впливають на морозостійкість.

Аналіз морозостійкості за плазматипами, виділеними К. Цунеквакі [17], показав, що тип S^l (цитоплазма від *Aegilops sharonensis*) стійко позитивно впливає на морозостійкість досліджених ліній, плазматип M (цитоплазма від *Ae. comosa*) пов'язаний зі стійким негативним впливом, інші плазматипи (*D*, S^v і *S*) виявляють різноманітний вплив, однак на досліджуваній стадії онтогенезу всі лінії з цими алоплазмами мають знижену морозостійкість, що інколи дуже сильно виражено, в порівнянні зі стадією паростків.

Що стосується впливу ядерного геному на морозостійкість, то він виявився невірогідним, однак, як і за проморожування паростків, найменша середня кількість живих рослин спостерігалася серед алоплазматичних ліній пшениці Донської напівінтенсивної, а найбільша — серед ліній Миронівської Ювілейної. Лінії пшениці Миронівська 808 щодо цього займали проміжне положення, наближаючись до ліній Миронівської Ювілейної, що не дивно, враховуючи походження сортів Миронівська 808 та Миронівська Ювілейна.

Висновки

1. Існують суттєві ефекти алоплазм на морозостійкість пшениці. Більшість із них спрямовані на зниження морозостійкості.
2. Прояв ефектів алоплазм у значній мірі залежить від взаємодії цитоплазми з ядерними геномами, а також від стадії розвитку пшениці.

Література

1. *Цицин Н. В.* Итоги научной деятельности главного ботанического сада АН СССР за 25 лет // Бюлл. ГБС. — 1971. — Вып. 81. — С. 5—15.
2. *Шулындин А. Ф.* Повышение зимостойкости озимой мягкой пшеницы. Использование в гибридизации пшенично-ржаных амфидиплоидов // Вестник с.-х. науки. — 1971. — № 8. — С. 41—46.
3. *Махалин М. А.* Некоторые генетические особенности синтеза зимостойких форм пшенично-ржаных гибридов и тритикале. — В кн.: Генетика и селекция отдаленных гибридов. — М.: Колос, 1976. — С. 91—98.
4. *Зарубайло Т. Я., Ригин Б. В., Скурыгина Н. А., Таврин Э. В.* Проблема отдаленной гибридизации пшеницы // Тр. по прикл. ботан., генет., селекц. — 1973. — Т. 49, вып. 3. — С. 59—71.

5. *Пидра М.* Генетический анализ морозостойкости озимой пшеницы и тритикале в диаллельных скрещиваниях // С.-х. биология. — 1988. — № 4. — С. 110—113.
6. *Цветков С., Ценов А.* Изучение наследования морозостойкости у гибридов тритикале одного уровня плоидности (2n=42 x 2n=42). Сообщ. I. Морозоустойчивость в F_1 // Генетика. — 1985. — Т. 21. — № 8. — С. 1400—1402.
7. *Максимов Н. Г., Костанди Г. В.* Сравнительная характеристика морозостойкости первичных гексаплоидных тритикале и их родительских форм // Науч.-техн. бюл. ВСГИ. — 1988. — № 2(68). — С. 14—18.
8. *Le H. T.,Reicosky D. A.,Olien C. R.* Freezing hardiness in amphiploids of Triticum tauschii (Coss.) Schmal. and T. turgidum L. var. durum // Can. J. Genet. and Cytol. — 1986. — V. 28, No 3. — P. 390—394.
9. *Limin A. E.,Fowler D. W.* Cold hardiness expression in interspecific hybrids and amphiploids of the Triticeae // Genome. — 1988. — V. 30, No 3. — P. 361—365.
10. *Limin A. E., Fowler D. W.* Inheritance of cold hardiness in Triticum aestivum x Synthetic hexaploid wheat crosses // Crop Dev. Center Res. Rep. 1992. — Saskatoon, 1994. — P. 25.
11. *Chen J., Xu N.* Studies on the utilization potentiality of the nucleo-cytoplasmic hybrid in wheat // Wuhan Univ. J. Nat. Sci. — 2000. — V. 5, No 1. — P. 114—118.
12. *Limin A. E., Fowler D. W.* The effect of cytoplasm on cold hardness in alloplasmic rye (Secale cereale L.) and triticale // Can. J. Genet. and Cytol. — 1984. — V. 26, No 4. — P. 405—408.
13. *Січняк О. Л, Файт В. І., Нагуляк О. І.* Ефекти алоплазм на морозостійкість паростків м'якої пшениці // Вісник ОНУ. — 2002. — Т. 7, вип. 1. — С. 105—110.
14. *Полтарев Е. М.* Оценка растений озимых культур на зимо- и морозостойкость методом промораживания растений в пучках // Методы определения морозо- и зимостойкости озимых культур. — М. — 1969. — С. 16—23.
15. *Седловский А. И., Мартынов С. П., Мамонов Л. К.* Генетико-статистические подходы к теории селекции самоопыляющихся культур. — Алма-Ата: Наука, 1982. — 200 с.
16. *Барашкова Э. А., Белякова Е. М., Мережко А. Ф., Мигушова Э. Ф.* Зимостойкость сородичей пшеницы // Бюлл. ВНИИ растениевод. — 1978. — Вып. 84. — С. 58—62.
17. *Tsunewaki K.* Genetic diversity of cytoplasm in Triticum and Aegilops // Japan, Tokio. — Japan Soc. of Science. — 1980. — 290 p.

А. Л. Сечняк, Т. А. Мандриченко, В. И. Файт
Одесский национальный университет, каф. генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина, e-mail: caphgen@ukr.net

Селекционно-генетический институт — Национальный центр семеноведения и сортоизучения, отдел генетики,
Овидиопольская дор., 3, Одесса, 65036, Украина, e-mail: fait@paco.net

ЭФФЕКТЫ АЛЛОПЛАЗМ НА МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТЬ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПОСЛЕ ВЕСЕННЕГО ВОЗОБНОВЛЕНИЯ ВЕГЕТАЦИИ

Резюме

Проведенные на аллоплазматических линиях трех сортов озимой мягкой пшеницы исследования показали наличие существенного влияния цитоплазмы на морозоустойчивость растений. Большинство из этих эффектов направлены на снижение морозоустойчивости. Проявление этих эффектов в значительной мере зависит от взаимодействия цитоплазмы с ядерными геномами, а также от стадии онтогенеза.

Ключевые слова: пшеница, эгилопс, аллоплазма, морозоустойчивость.

A. L. Sechnyak, T. A. Mandrychenko, V. I. Fayt
Odessa National University, Department of Genetics and Molecular Biology,
str. Dvoryanskaya, 2, Odessa, 65026, Ukraine, e-mail: caphgen@ukr.net

Plant Breading and Genetics Institute — National Centre of Seed and Varieties Investigations, Department Genetics,
Ovidiopolskaya dor., 3, Odessa, 65036, Ukraine, e-mail: fait@paco.net

THE ALLOPLASMATIC EFFECTS ON THE FREEZING HARDINESS OF THE BREAD WHEATS AFTER SPRING VEGETATION RENEWAL

Summary

The set of alloplasmatic lines of three varieties of the winter bread wheat was investigated. The essential cytoplasmatic effects on the freezing hardiness of the wheat have been found out. The majority of these effects are directed on decrease of the freezing hardiness. The manifestation of these effects significantly depends upon the interactions allopasms with the nucleus genomes, and also upon the ontogenetic stage.

Keywords: wheat, aegilops, alloplasma, freezing hardiness

УДК 633.11: 575.2: 581.19

В. А. Топтіков, канд. біол. наук, ст. наук. співроб., **Л. Ф. Дьяченко**, канд. біол. наук, пров. наук. співроб., **В. М. Тоцький**, д-р біол. наук, проф., зав. каф., **Ю. В. Седлецька**, студ.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра генетики та молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна, E-mail: caphgen_onu@mail.ru.

ФІЛОГЕНЕТИЧНІ ВЗАЄМОВІДНОШЕННЯ ГЕНОМІВ ПШЕНИЦЬ ЗА АНАЛІЗОМ МНОЖИННИХ ФОРМ ФЕРМЕНТІВ

Проаналізовано електрофореграми множинних форм деяких оксидоредуктаз і естераз у різних пшениць та їх родичів (всього 21 вид). Встановлена геномна специфічність спектрів множинних форм досліджених ферментів. На основі аналізу електрофоретичних спектрів ферментів побудовано дендрограму, яка показує філогенетичні взаємовідношення між геномами злаків. Зроблено висновок про домінуючий вплив геному А за поєднання з іншими геномами злаків.

Ключові слова: множинні форми ферментів, оксидоредуктази, естерази, пшениця, філогенія

Пшениця, особливо м'яка, є найважливішою харчовою культурою людства. Тому питання про походження різних видів пшениць та їх спорідненість дуже цікавить дослідників. Незважаючи на те, що спеціальна генетика пшениць і проблеми їх філогенезу вивчаються досить давно і ефективно, спільної думки щодо походження м'якої пшениці та її геномів поки що немає [1—5].

З'ясуванню такого складного питання може сприяти використання різних підходів та методів: засобів класичної генетики, цитогенетики і хромосомного аналізу, молекулярної біології та біохімічної генетики. Серед усіх зазначених методів для цієї мети сьогодні широко застосовується метод аналізу множинних форм ферментів. Розповсюдженим стає використання ізоформ ферментів як генетичних маркерів [3, 6—8], а також для з'ясування генетичної спорідненості та походження пшениць [3, 9—12].

Метою цієї роботи є з'ясування особливостей електрофоретичних спектрів досліджуваних оксидоредуктаз і естераз у носіїв певних геномів і побудова на підставі отриманих даних філогенетичного дерева геномів роду *Triticum*.

Матеріали і методи

В роботі використовували матеріал люб'язно наданий Національним центром генетичних ресурсів України Інституту рослинництва

© В. А. Топтіков, Л. Ф. Дьяченко, В. М. Тоцький, Ю. В. Седлецька, 2004

ім. В. Я. Юр'єва і доцентом кафедри генетики і молекулярної біології ОНУ ім. І. І. Мечникова О. Л. Січняком. Всього було проаналізовано 21 вид злаків з різним геномним складом та плоїдністю:

геном A — *Triticum boeoticum* Boiss., *T. urartu* Thum., *T. monococcum* L. (2n=2x=14);

геном AB — *T. dicoccum* Schuebl. (*var. serbicum і var. volgense*), *T. turgidum* L. (сорт Новинка та *var. salomonis*), *T. durum* Desf. (сорти Харківська 1, Чорномор, Дельта, Айсберг одеський), *T. turanicum* Jacubz., *T. aethiopicum* Jacubz., *T. polonicum* L., *T. persicum* Vav. (*var. fuliginosum* та *var. stramineum*), (2n=4x=28);

геном ABD — *T. macha* Dek. et Men., *T. spelta* L., *T. aestivum* L. (сорти Одеська 267, Тіра, Федорівка, Красуня, Безоста 1, Миронівська 808, Донська напівінтенсивна), *T. spherococcum* Perc., *T. petropavlovskyi* Udacz, (2n=6x=42);

геном ABR — ×*Triticosecale* Wittmarck (сорти Сувенір, Простір, Ураган, Одеський зеніт), (2n=6x=42),

геном B — *Aegilops speltoides* L. (лінії ВІР К-12 та К-1314), (2n=2x=14);

геном D — *Ae. tauschii* Coss. (=*Ae. squarrosa* L.), (2n=2x=14 та природний поліплоїд 2n=4x=28);

геном DC — *Ae. cylindrica* Host. (лінія ВІР К-206 та матеріал місцевого збору), (2n=4x=28);

геном CU — *Ae. triuncialis* L. (2n=4x=28);

геном R — *Secale cereale* L. (сорти Харківська 78, Харківська 60, Нива, Insave, Tirolen, Snoopy), (2n=2x=14).

Ферменти екстрагували з етіольованих паростків [13]. Електрофорез провадили у 10 % поліакриламідному гелі за системою Девіса [14] без концентруючого гелю.

Виявлення пероксидаз (ПО) — КФ 1.11.1.7 — здійснювали за методом [15], супероксиддисмутаз (СОД) — КФ 1.15.1.1 — [16], цитохромоксидаз (ЦХО) — КФ 1.9.3.1 — [17], фенолоксидаз (ФО) — КФ 1.10.3.1 — [18] і естераз — КФ 3.1.1.1, 3.1.1.2, 3.1.1.6, 3.1.1.7, 3.1.1.8 — [19].

Наявність множинних форм ферментів та ступінь забарвлення окремих смуг оцінювали візуально. Для комп'ютерної обробки електрофоретичних спектрів смуги в них оцінювали за двоїстою системою: 0 — відсутність смуги чи відносно низька інтенсивність забарвлення, 1 — наявність смуги чи відносно висока інтенсивність забарвлення. Кореляцію між параметрами досліджених видів (геномний склад, плоїдність) та особливостями електрофореграм виявляли методом максимальної правдоподібності за допомогою спеціальної комп'ютерної програми "Mapping" [20]. Для побудови генеалогічних древ використовували програму "Trees" [20].

Результати досліджень та їх аналіз

Як правило, генетичні дослідження ведуться на ізогенних лініях з метою забезпечення однорідності матеріалу. Такий підхід має певні

переваги, але відомо, що ізоферменти характеризуються високою внутрішньовидовою варіабельністю. Особливо це стосується видів, які мають складну алополіплоїдну структуру геному [3, 6—8]. У даному дослідженні для нівелювання внутрішньовидової і міжвидової варіабельності використовували пропорційні суміші екстрактів наявних ліній та сортів, які є носіями певних геномів. Цей підхід дозволяє абстрагуватися від внутрішньо- і міжвидової різноманітності і отримати "підсумкові" електрофореграми ферментів, які властиві конкретним геномам.

На рис. 1 наведено схеми електрофореграм досліджених ферментів, які отримані із сумішей екстрактів носіїв певних геномів. Аналіз результатів дозволяє визначити такі особливості експресивності множинних форм ферментів в досліджуваних геномах.

Носії геному А характеризуються наступними особливостями:

1) висока інтенсивність забарвлення ПО і ЦХО в діапазоні Rf 0,06–0,17;

2) найвищий рівень забарвлення смуг ПО, ФО і ЦХО з відносною рухливістю 0,06; при цьому максимальне забарвлення цих форм спостерігається у диплоїдних пшениць, тоді як у тетра- і гексаплоїдних пшениць пероксидазна та цитохромоксидазна активності в цій смузі трохи знижуються;

3) досить інтенсивна забарвленість форм ЦХО з Rf 0,22, 0,25 і 0,27;

4) слабка форма СОД з Rf 0,41;

5) притаманність форми β-естерази з відносною рухливістю 0,25 диплоїдним пшеницям (геном АА) та відсутність цієї активності як у алоплоїдів з цим геномом, так і в усіх інших рослин;

6) диплоїди з геномом АА відрізняються від решти досліджених рослин кількісною перевагою форм естерази з β-естеразною активністю над формами з α-естеразною: з 13 виявлених у них форм ферменту — 9 більш специфічні до β-субстратів.

Для спектрів носіїв геному В встановлені такі властивості:

1) специфічним для всіх алоплоїдів пшениць і тритикале (геноми ААВВ, ААВВDD, ААВВRR) є інтенсивна забарвленість смуги ПО з Rf 0,25; ці геноми, як згадувалося раніше, також характеризуються активною ізопероксидазою з Rf 0,06 (донор — геном А чи/і R); у протилежність цьому *Ae. speltoides* (геном ВВ), має дуже низьку інтенсивність забарвлення смуг ПО з відносною рухливістю 0,06 та 0,25;

2) для диплоїда характерною є інтенсивна смуга ЦХО з Rf 0,42, яка зустрічається і у деяких алоплоїдів;

3) наявність смуг СОД з Rf 0,02 і 0,08 у *Ae. speltoides* і значне послаблення їх у алополіплоїдів;

4) дуже інтенсивна α-естеразна активність в зоні з Rf 0,16-0,22 у диплоїда і відсутність цієї особливості у алоплоїдних пшениць і тритикале;

5) слабке проявлення форми естерази з Rf 0,28 у всіх носіїв геному В: *Ae. speltoides*, поліплоїдних пшениць і тритикале.

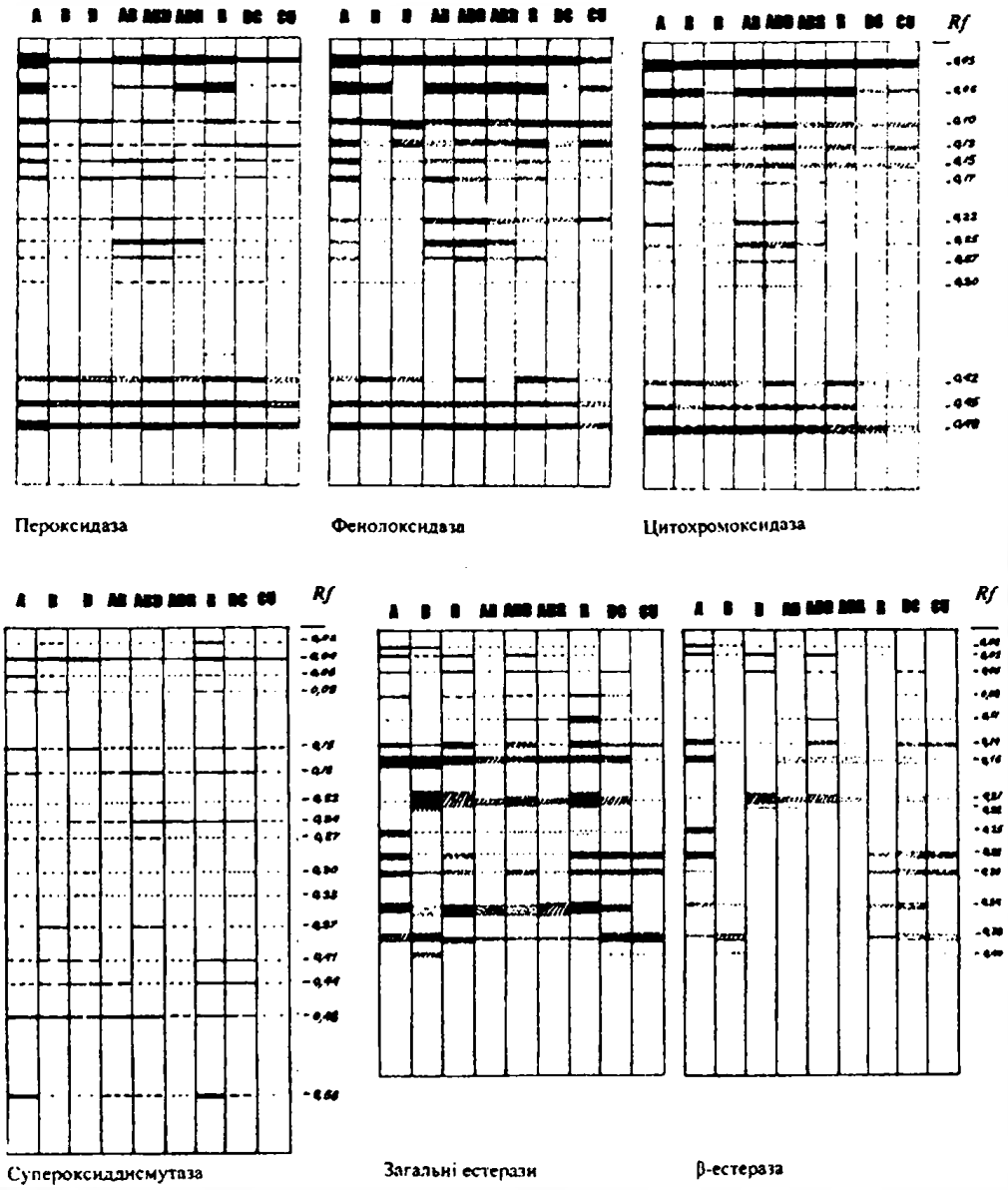


Рис. 1. Спектри множинних форм ферментів відповідних геномів злаків: A, B, D, AB, ABD, ABR, R, DC, CU — геноми, Rf — відносна електрофоретична рухливість

Узагальнюючи дані щодо особливостей електрофореграм носіїв геному B, можна зазначити, що *Ae. speltoides* і алоплоїди пшениць та тритикале мають дуже мало спільних властивостей. Це добре узгоджується з даними, які свідчать за синтетичне походження геному B у поліплоїдних пшениць. Крім *Ae. speltoides*, у його формуванні приймали участь також інші донори, такі як *Ae. longissima* або *Ae. sharonensis* і *Ae. bicornis* [3, 4, 21].

Носії геному D також не відзначаються великою кількістю спільних властивостей. Слід звернути увагу на відсутність форми ПО і ЦХО з Rf 0,06 у *Ae. tauschii*, але у алоплоїдів з геномом D ця смуга виявляється достатньо чітко. Диплоїди з геномом D, як і інші досліджувані диплоїдні злаки, характеризуються відносною перевагою пероксидазної та цитохромоксидазної активностей в діапазоні Rf 0,03—0,17 над активностями форм з Rf 0,17-0,30. У алоплоїдів пшениць і тритикале, навпаки, спостерігається протилежна залежність. *Ae. tauschii* має також високу α-естеразну активність у смугах з Rf 0,14, 0,16 та 0,34, але це не є властивим іншим носіям геному D.

Як і у випадку з геномом B, характеристики досліджуваного донора геному D (*Ae. tauschii*) мало співпадають з властивостями "реципієнтів". Однак, важко припускати синтетичне (від декількох донорів, або окремі донори для конкретних видів) походження геному D у гексаплоїдних пшениць, оскільки інші диплоїдні види з цим геномом не відомі. Можливо, в складених геномах має місце домінантно-рецесивна взаємодія гомеологічних структурних генів чи/і вплив регуляторних генів гомеологічних геномів, або внутрішньо- чи міжгеномна трансгресія [22]. Так, дослідження особливостей спектрів гліадинів, альбумінів і гістонів у пшенично-житніх амфігаплоїдів F_1, тритикале та їх батьків показало, що в результаті об'єднання і взаємодії геномів пшениці та жита ознаки у гибридів не спадкуються тільки за принципом кодомінування і не є звичайною сумою вихідних (батьківських) властивостей [23]. Не виключно, що як донор геному D в пшеницях виступала інша різновидність *Ae. tauschii*, яку ми не використовували [3]. Усе це пояснює відмінності між спектрами ферментів (тобто експресивністю певних генів) донора і видів, які мають у своєму складеному геномі спадкоємний матеріал різних джерел.

Своєрідністю відзначаються спектри ферментів жита. З одного боку, вони мають спільні риси зі спектрами диплоїдних носіїв геному A: дуже активні форми ПО, ФО і ЦХО з Rf 0,06; відносно сильна забарвленість ЦХО з Rf 0,27. З другого боку, спектри жита схожі зі спектрами *Ae. speltoides* та *Ae. tauschii*: відносно низька забарвленість спектрів ПО і ЦХО в діапазоні Rf 0,15-0,25. Є властивості, які не зустрічаються у решти видів: одночасно висока інтенсивність забарвлення смуг ПО і ЦХО з рухомістю 0,10 та 0,13; добре проявляється форма СОД з Rf 0,58; висока α-естеразна активність в діапазоні Rf 0,11-0,22. За зіставлення спектрів жита і тритикале важко визначити конкретний вплив геному R на експресивність ферментів гібриду. Можна відмітити збереження у тритикале високої інтенсивності забарвлення форм ПО і ЦХО з Rf 0,06, тоді як у алоплоїдних пшениць експресивність цих форм знижується у порівнянні з диплоїдними пшеницями.

Геноми C і U представлені в колекції лише у двох-трьох зразках, що не дозволяє з упевненістю говорити про специфічність їх електрофореграм. Аналіз особливостей носіїв цих геномів не провадили.

Таким чином, можна зробити висновок, що електрофореграми множинних форм досліджених ферментів мають геномну специфічність та можуть бути застосованими для діагностики наявності елементів певних геномів. Необхідно вказати на домінування геному А у формуванні особливостей спектрів ферментів у поліплоїдних пшениць.

З літератури відомо [7], що особливості філогенетичних взаємовідношень, які відображають найбільш реальну ситуацію, можуть бути отримані шляхом аналізу великої кількості ферментних систем. Для отримання найбільш достовірної інформації було побудоване філогенетичне дерево, яке поєднує дані про всі досліджувані ферменти (рис. 2).

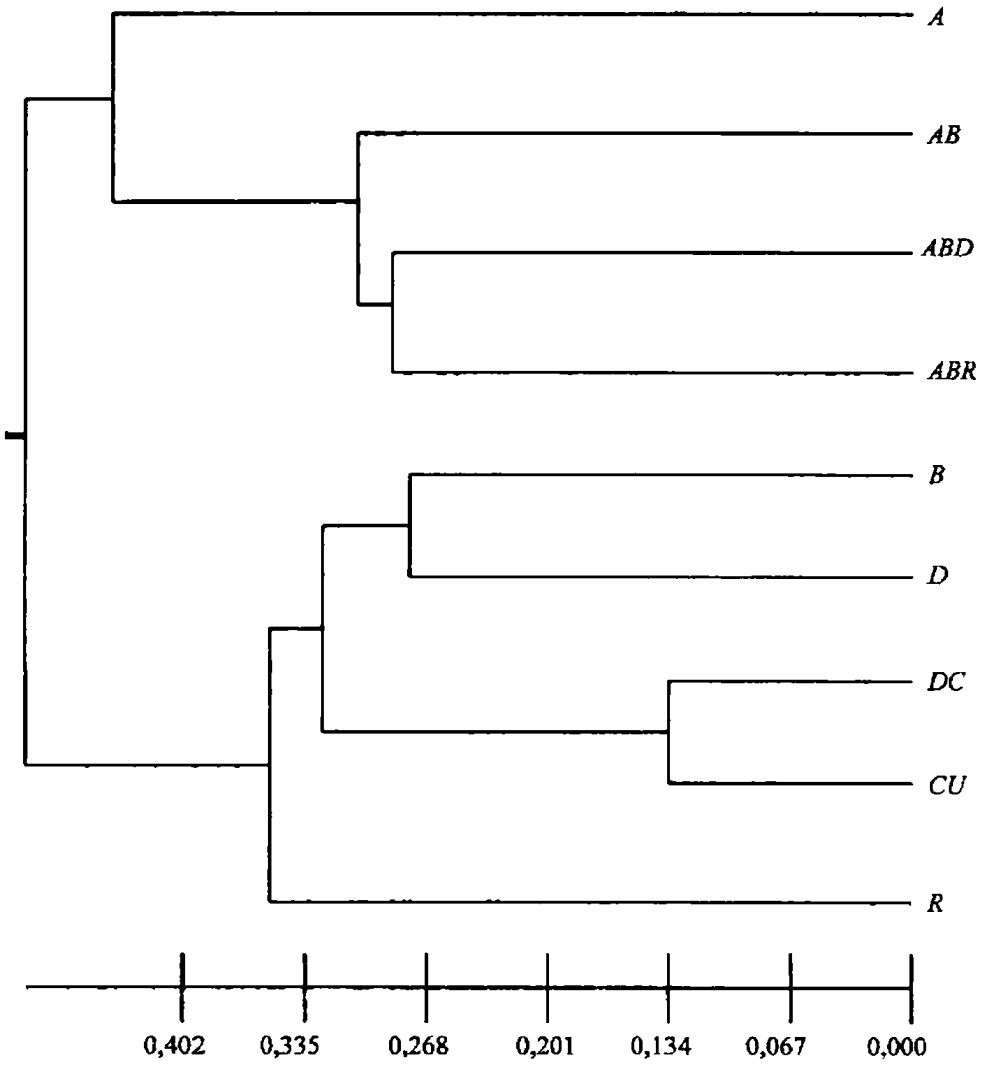


Рис. 2. Філогенетичні зв'язки між геномами злаків за аналізом множинних форм оксидоредуктаз і естераз (на осі абсцис — генетична дистанція в умовних одиницях)

На цьому дереві всі носії геному А об'єднані в один кластер. Видно, що першим від гілки "А" відділилася тетраплоїдна пшениця (AABB), а вже потім гексаплоїдні пшениці (AABBDD) і тритикале (AABBRR). Цікаво, що тритикале потрапило в один кластер з пшеницями. Це підтверджує висновок про домінуючий вплив геному А за поєднання з іншими геномами злаків. Геноми В і D є спорідненими та входять в один кластер з носіями геномів DC і CU. Окрему, але близьку до геномів DC і CU гілку утворює жито (RR). Таке генеалогічне дерево добре узгоджується з генеалогіями, які створено на інших засадах і є загальноприйнятими у даний час [1, 2, 5].

Порівняльний аналіз спектрів множинних форм ферментів дозволяє з'ясовувати не тільки філогенетичні взаємовідношення, але й експресивність окремих генів та їх взаємодію за поліплоїдизації. Це питання є темою окремої роботи. Зазначимо лише, що експресивність генів у складеному геномі не має спрощеного, адитивного характеру і що можливі різні варіанти прояву експресивності генів у порівнянні з батьківськими формами: незмінність прояву, підсилення або зменшення рівня експресії та виникнення нових генних продуктів.

Таким чином, встановлено, що електрофоретичні спектри оксидоредуктаз і естераз у досліджуваних злаків мають певні особливості і окремі множинні форми цих ферментів та їх визначені комбінації можуть слугувати маркерами відповідних геномів. Аналіз множинних форм оксидоредуктаз і естераз можна використовувати для з'ясування філогенетичних взаємовідношень між видами.

Література

1. *Цитогенетика* пшеницы и ее гибридов / Под ред. П. М. Жуковского и В. В. Хвостовой / — М.: Наука, 1971. — 288 с.
2. *Дорофеев В. Ф., Якубцинер М. М., Руденко М. И.* и др. Пшеницы мира / Под ред. Д. Д. Брежнева /. — Л.: Колос (Ленингр. отд-ние), 1976. — 487 с.
3. *Конарев В. Г.* Белки растений как генетические маркеры. — М.: Колос, 1983. — 320 с.
4. *Зеленин А. В., Бадаева Е. Д., Бадаев Н. С.* Хромосомный анализ злаков, теоретические и прикладные аспекты // Генетика. — 1987. — Т. 23, № 10. — С. 1749—1761.
5. *Nicolas P.*, Cours de Genetique moleculaire vegetale. Maitrise de Biologie Cellulaire et Physiologie, Mention Genetique Moleculaire et Cellulaire et Physiologie, option Physiologie Vegetale, l'annee 2001/2002. Universite Blaise Pascal, Clermont-Ferrand II.
6. *Райдер К., Тейлор К.* Изоферменты. — М.: Мир, 1983. — 106 с.
7. *Левитес Е. В.* Генетика изоферментов растений. — Новосибирск: Наука, 1986. — 144 с.
8. *Глазко В. И., Созинов И. А.* Генетика изоферментов животных и растений. — Киев: Урожай, 1993. — 528 с.
9. *Wolf G., Lerch D.* Genome analysis in the triticinae using izoenzimes of phosphodiesterase // Wheat inform. Serv. — 1974. — N 38. — P. 17—19.
10. *Яаска В. Э.* Алкогольдегидрогеназа полиплоидных пшениц и их диплоидных сородичей. К филогенезу тетраплоидной пшеницы // Генетика. — 1976. — Т. 12, № 11. — С. 82—88.
11. *Aurian P., Autran J. C., Charbonier L.* et al. Variabilite genetique de la composition des gliadanes, glutenines, β-amylases, α-esterases, peroxydases et phospotases acides du ble (*T.aestivum*) // Ann. Amelior. Plantes. — 1976. — V. 26, N 1. — P. 51—66.

12. *Jaaska V. V.* Aspartat aminotranspherase and alcohol dehydrogenase isoenzymes: intraspecific differentiation in *Aegilops taushii* and origin of the D-genome poliploids in the wheat group // Plant syst. Evol. — 1981. — V. 137. — P. 259—273.
13. *Топтиков В. А., Мирось С. Л., Дьяченко Л. Ф.* и др. 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.
14. *Davies B. I.* Disk-electrophoresis. 2. Method and application to human serum protein // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 1964. — V. 121, N 2. — P. 404—427.
15. *Сафонов В. И., Сафонова М. Р.* Исследование белков и ферментов растений методом электрофореза в полиакриламидном геле // Биохимические методы в физиологии растений. — М.: Наука, 1971. — 113 с.
16. *Гааль Э., Медьеши Г., Верецкеи Л.* Электрофорез в разделении биологических макромолекул. — М.: Мир, 1982. — 448 с.
17. *Бернстон М.* Гистохимия ферментов. — М.: Мир, 1965. — 455 с.
18. *Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П.* и др. Методы биохимического исследования растений. — Л.: Агропромиздат, 1987. — 430 с.
19. *Корочкин Л. И., Серов О. Л., Пудовкин А. И.* и др. Генетика изоферментов. — М.: Наука, 1977. — 275 с.
20. *Календарь Р. Н.* Компьютерные программы для построения эволюционных деревьев на основе электрофореграмм ДНК и белков//Молекулярно-генетические маркеры и селекция растений: Материалы конф. — Киев, 1994. — С. 25—26.
21. *Teoh S. B., Hutchinson J.* Interspecific variation in C-banded chromosomes of diploid *Aegilops* species // Theor. Appl. Genet. — 1983. — V. 65, N 2. — P. 31—40.
22. *Тоцький В. М.* Генетика: Підручник. — Одеса: Астропринт, 2002. — 712 с.
23. *Гордей И. А.* Тритикале: Генетические основы создания. — Минск: Навука і тэхніка, 1992. — 287 с.

В. А. Топтиков, Л. Ф. Дьяченко, В. Н. Тоцкий, Ю. В. Седлецкая
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина, E-mail: caphgen_onu@mail.ru.

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ГЕНОМОВ ПШЕНИЦ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА МНОЖЕСТВЕННЫХ ФОРМ ФЕРМЕНТОВ

Резюме

Проанализированы электрофореграммы множественных форм некоторых оксидоредуктаз и эстераз у разных пшениц и их родственников (всего 21 вид). Установлена геномная специфичность множественных форм исследованных ферментов. На основе анализа электрофоретических спектров ферментов построена дендрограмма, которая показывает филогенетические взаимоотношения между геномами злаковых. Сделан вывод о доминирующем влиянии генома А при объединении с другими геномами злаковых.

Ключевые слова: множественные формы ферментов, оксидоредуктазы, эстеразы, пшеница, филогения

V. A. Toptikov, L. F. Diachenko, V. N. Totsky, Ju. V. Sedletskaya
Odessa National University, Department of Genetic and Molecular Biology, Dvoryanskaya str., 2, Odessa, 65026, Ukraine, E-mail: caphgen_onu@mail.ru.

PHYLOGENETIC RELATIONS OF WHEAT GENOMES AS A RESULT OF MULTIPLE ENZYME FORMS ANALYSIS

Summary

The electrophoregrammes of some oxydoreductases and esterases in different wheats and their relatives were analyzed (21 species in total). The electrophoretic spectra investigated enzymes had genomic specifity. The dendrogramme of phylogenetic Poacea genomes relations was built on the base of electrophoretic spectra. The dominate influence of genome A in complex wheat genome was shown.

Keywords: multiple enzymes forms, oxydoreductases, esterases, wheat, phylogenetic relations.

УДК 576.315:575.222.73:633.1

Т. Г. Трочинська, асп., **Т. П. Бланковська**, д-р біол. наук, проф.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечнікова,
кафедра генетики і молекулярної біології,
вул Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна, e-mail: caphgen_onu@mail.ru.

МОРФОЛОГІЯ ЗАРОДКОВОГО МІШКА У ДРУГОГО ТА ТРЕТЬОГО ПОКОЛІНЬ ПШЕНИЧНО-ЖИТНІХ ГІБРИДІВ

Проведено порівняльне дослідження розвитку зародкового мішка у другого та третього поколінь пшенично-житніх гібридів та батьківських форм. Виявлено запізнення процесів диференціювання полюсів ценоцитного зародкового мішка у F_2 пшенично-житніх гібридів у порівнянні з батьківськими формами. У F_2 під час цвітіння рослин зародковий мішок залишається незрілим. У F_3 розвиток і будова зародкового мішка майже не відрізняються від такого у материнської форми.
Ключові слова: зародковий мішок, пшенично-житні гібриди.

Вивченню генеративних структур рослин родини Poaceae, зокрема пшениці та жита, присвячена велика кількість робіт [1—7 та ін.]. Що ж до пшенично-житніх гібридів, то таких досліджень не достатньо. За схрещування м'якої пшениці з житом особливих аномалій у розвитку зародка не спостерігалося. В окремих випадках він мав довгасту форму за рахунок розростання суспензора і колеоризи. Ендосперм був менш розвиненим, ніж у пшениці, в його халазальній частині зустрічалися порожнини, що утворилися внаслідок руйнування деяких клітин. Алейроновий шар на дорсальному боці зернівки не суцільний, а на вентральному часто відсутній. На відміну від норми, він іноді з'являється біля щитка. Гіалінова зона між зародком та ендоспермом не утворювалася. Гібридне насіння є життєздатним [8]. У F_1 пшенично-житніх гібридів у дозрілих насінних зачатках зародковий мішок відсутній. На його місці знаходиться рубець, який утворився за рахунок розростання тканини нуцелусу [9]. Було встановлено, що у першого покоління пшенично-житніх гібридів халазальна макроспора, як правило, не вступає в мітоз [10], а зернівки формуються дуже рідко (0,07—0,5% зав'язей).

Метою даної роботи було вивчення розвитку і будови зародкового мішка другого та третього поколінь пшенично-житніх гібридів у порівнянні з батьківськими формами.

Матеріали та методи

Об'єктами досліджень були гібриди другого та третього поколінь від схрещування озимої м'якої пшениці Миронівська 808 з озимим житом Одеське 1.

© Т. Г. Трочинська, Т. П. Бланковська, 2004

Різновікові зав'язі (у фазі колосіння та цвітіння рослин) фіксували за Навашиним та занурювали в парафін за загально прийнятою методикою [11]. Мікротомні зрізи завтовшки 10 мкм забарвлювали бромфеноловим синім [12]. Постійні мікротомні препарати (близько 200) вивчали під світловим мікроскопом "БІОЛАМ"; для замальовування використовували рисувально-проекційний апарат РА-7.

Результати та їх обговорення

Вивчали розвиток та будову жіночого гаметофіту у F_2 та F_3 пшенично-житніх гібридів у порівнянні з батьківськими формами.

Виявлено, що розвиток та будова зародкових мішків пшениці Миронівська 808 та жита Одеське 1 не відрізняється від описаних у літературі для інших сортів [1—5].

У батьківських форм розміри зародкового мішка та його елементів залежать від віку насінного зачатка та його розташування в суцвітті. За будовою зародкові мішки жита та пшениці дуже схожі. В мікропілярній частині знаходиться яйцевий апарат, що складається з яйцеклітини та двох синергід. Центральна клітина — найбільша й дуже вакуолізована. У її середній частині у густому тяжі цитоплазми містяться полярні ядра. Антиподи, яких у сформованому зародковому мішку три, діляться мітозом, досягаючи кількості двадцяти-тридцяти [2, 3, 5]. Клітини антипод розрізняються за розміром, формою, будовою ядер.

У фазі колосіння пшениця має сформований зародковий мішок, який характеризується розташуванням антиподального комплексу у його халазальній частині. У жита Одеське 1 на стадії колосіння рослин у різних частинах колосу зародкові мішки були або сформовані, або знаходились ще у ценоцитному стані. Як відомо, розвиток зародкових мішків у різних ділянках колосу злаків відбувається неодночасно. Першими дозрівають ті, що знаходяться в зав'язях центральної частини колосу, і цей процес йде в напрямку верхівки і низу колосу. Оскільки колос жита майже вдвічі більший за колос пшениці, різноманітність етапів розвитку зародкових мішків у ньому більша. Халазальні ядра ценоцитного зародкового мішка більші за мікропілярні (рис. 1, А). Це свідчить про те, що диференціювання полюсів зародкового мішка в нормі починається дуже рано.

У другого покоління пшенично-житніх гібридів на стадії колосіння рослин приблизно в рівному співвідношенні зустрічалися ценоцитні (2-, 8-ядерні) та сформовані зародкові мішки.

На препаратах з двоядерними зародковими мішками в мікропілярній частині насінного зачатка знаходяться дегенеруючі мегаспори. Дегенерація оточуючих зародковий мішок клітин нуцелуса ще не помітна.

На препаратах з чотириядерними зародковими мішками також видно залишки дегенеруючих мікропілярних мегаспор. Лізис нуцелярних клітин в цей період значно посилюється. Ядра та ядерця цено-

цитного зародкового мішка F_2 гібридів, як правило, не розрізняються за розмірами (рис. 1, В), що свідчить про більш пізній початок диференціювання полюсів зародкового мішка у гібридів порівняно з батьківськими формами.

В фазі цвітіння рослин зародковий мішок жита зрілий.

На стадії колосіння восьмиядерні ценоцити мали два полюси по чотири ядра; на препаратах семиклітинних зародкових мішків батьківських форм можна чітко бачити диференціювання за морфофункціональними ознаками: формується яйцевий апарат, центральна клітина й антиподи. Лише незначна частина зародкових мішків F2 мала розвинений антиподальний комплекс. І сам зародковий мішок, і його клітини у F2 менші, ніж у батьківських форм.

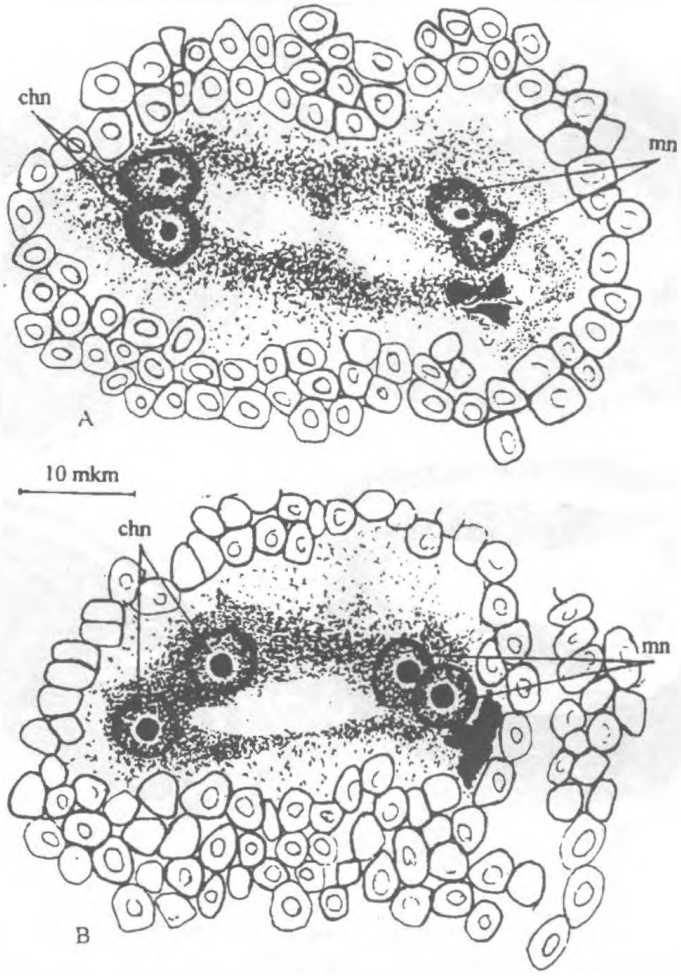


Рис. 1. Чотириядерні зародкові мішки жита Одеське 1 (А) та F_2 пшенично-житнього гібриду (В) під час колосіння рослин chn — халазальні ядра, mn — мікропілярні ядра

У F_3 пшенично-житніх гібридів у фазі колосіння рослин зародкові мішки вже сформовані, вони середніх розмірів з відносно великими клітинами.

На стадії цвітіння рослин більшість зародкових мішків пшениці і жита були зрілими. Антиподальний комплекс розташовувався на бічній стороні зародкових мішків, які мали великі розміри (рис. 2, A, B).

У другого покоління пшенично-житніх гібридів зародкові мішки на стадії цвітіння рослин залишаються незрілими (рис. 2, C, рис. 3, A). Вони вузькі, довгасті, в них не відбувається збільшення центральної клітини і переміщення антиподального комплексу на бічну сторону зародкового мішка, як це характерно для зрілих жіночих гаметофітів батьківських форм. Взагалі вони подібні до сформованого зародкового мішка пшениці на стадії її колосіння (рис. 3).

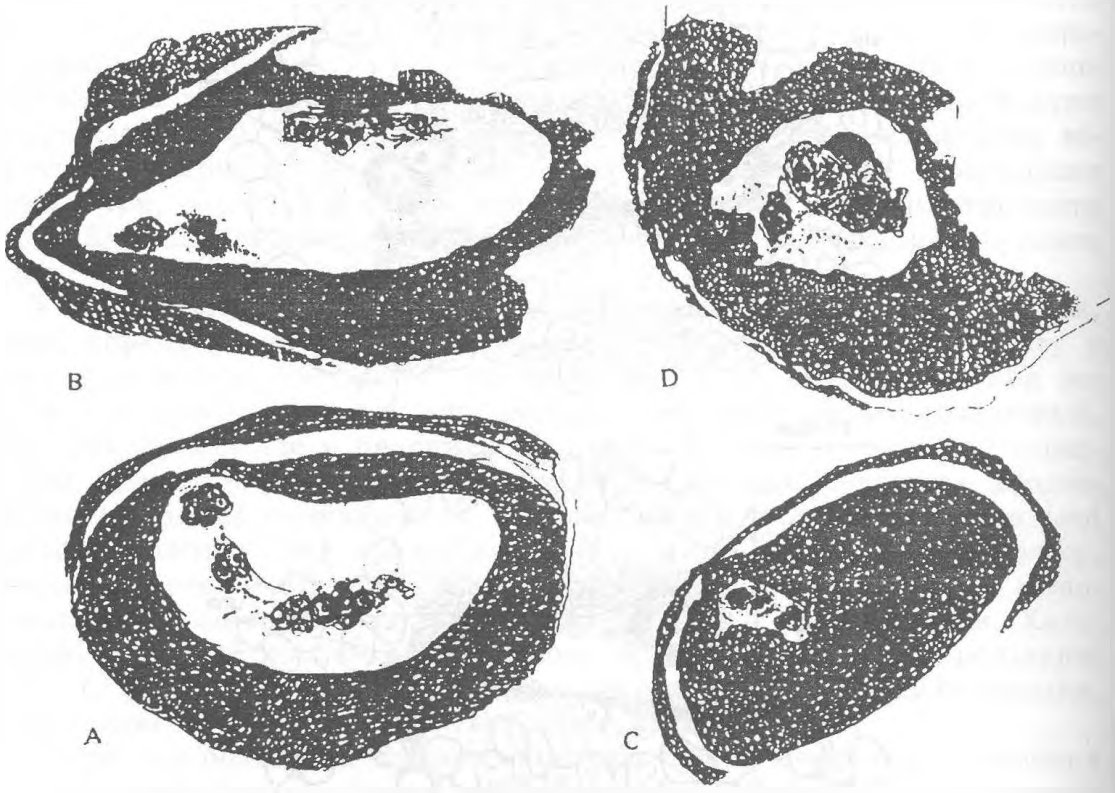


Рис. 2. Зародкові мішки досліджуваних злаків під час цвітіння рослин. A — пшениця Миронівська 808, B — жито Одеське 1, C — F_2 пшенично-житніх гібридів, D — F_3 пшенично-житніх гібридів. Об. 8х, ок. 15х

У фазі цвітіння рослин F_3 зародкові мішки зрілі, з великою кількістю антипод. Порожнина зародкового мішка витягнута в напрямку від мікропіле до халази (рис. 2, D).

За морфологічними показниками зародкові мішки гібридів другого покоління займають проміжне положення між батьківськими формами. Гібриди третього покоління більш подібні до материнської форми. Форма синергід та яйцеклітини F_3 не відрізняється від таких клітин у пшениці. Ядра синергід та їх ядерця невеликі та мають кулеподібну форму. Ядро і ядерце яйцеклітини крупніші. Межі центральної клітини не чітко окреслені. Полярні ядра та їх ядерця в одному й тому ж зародковому мішку майже однакового розміру.

У F_3 розвиток і будова зародкового мішка майже не відрізняється від такого у материнської форми.

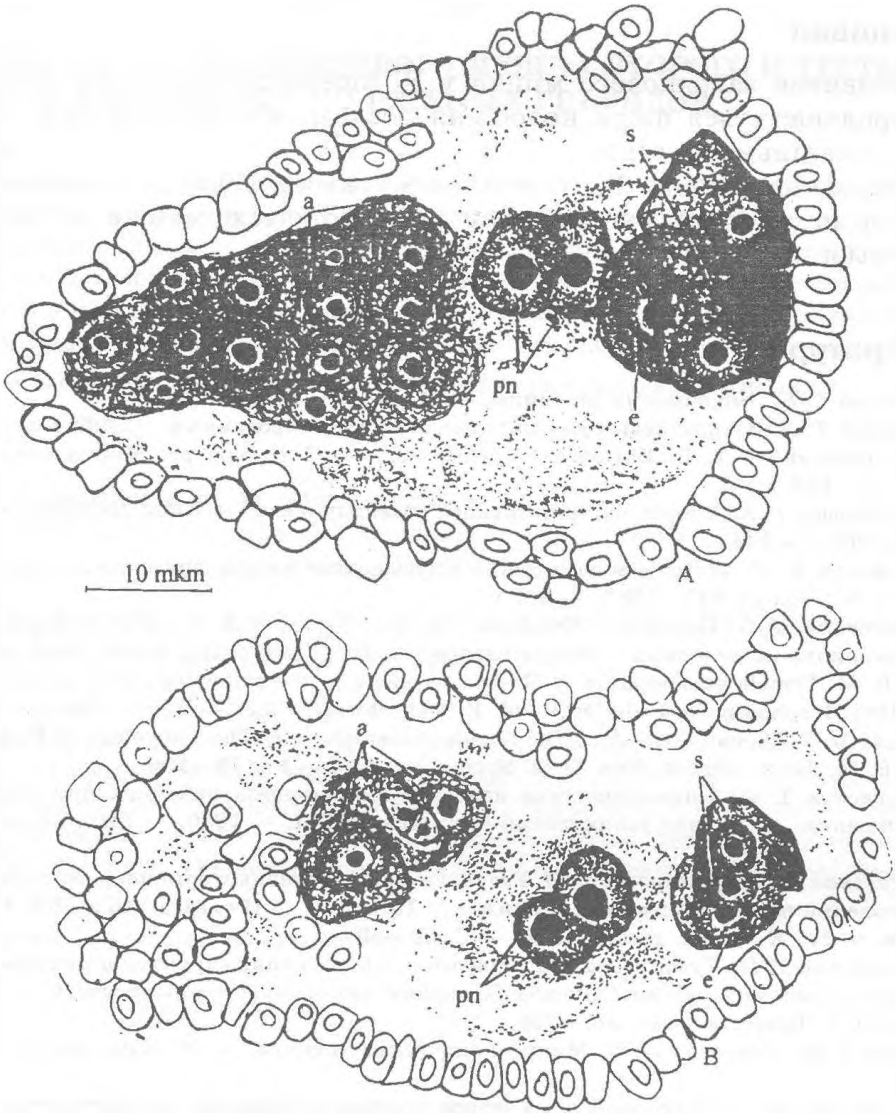


Рис. 3. Зародкові мішки пшениці Миронівська 808 під час колосіння рослин (A) та F_2 пшенично-житніх гібридів під час цвітіння рослин (B) e — яйцеклітина, s — синергіди, pn — полярні ядра, a — антиподальні клітини

Антиподальний комплекс утворюють досить великі клітини. Форма їх дуже різноманітна. Більшість ядер антипод мала еліпсоподібну форму, зустрічались ядра й кулястої форми; деякі були з вип'ячуваннями та інвагінаціями. Ядерця у більшості клітин антипод були кулеподібні, хоч зустрічались ядерця і видовженої форми. Антиподальний комплекс усіх досліджуваних форм характеризувався знаходженням більш великих клітин у центрі комплексу. Вірогідно, це пов'язано з неоднаковим ступенем політенізації хромосом [13, 14, 15]. Вона максимальна в центрі та зменшується в напрямку периферії комплексу.

Висновки

1. Розвиток зародкового мішка у F_2 пшенично-житнього гібриду не продовжується після колосіння рослин; він залишається немовби в ювенільному стані.
2. Зародкові мішки F_3 пшенично-житнього гібриду і материнської форми за темпами розвитку і морфологією майже не відрізняються.

Література

1. *Батыгина Т. Б.* Эмбриология пшеницы. — Л.: Колос, 1974. — 206 с.
2. *Батыгина Т. Б.* Зародышевый мешок: зрелый и сформированный // Эмбриология цветковых растений / Т. Б. Батыгина / редактор / — С.-Петербург: Мир и семья, 1994. Т. 1.— С. 188.
3. *Бейліс-Вирова Р. А.* Історія індивідуального розвитку жита. — Київ: Держсільгоспвидав УРСР, 1962. — 144 с.
4. *Ивановская Е. В.* Цитоэбриологическое исследование дифференцировки клеток растений. — М.: Изд-во МГУ, 1983. — 152 с.
5. *Модилевский Я. С., Оксиюк П. Ф., Худяк М. И., Дзюбенко Л. К., Бейлис-Выровая Ф. А.* Цитоэмбриология основных хлебных злаков. — Киев: Изд-во АН УССР, 1958. — 336 с.
6. *Johri B. M.* Female gametophyte // Recent advances in the embyology of angiosperms. Intl Soc Plant Morphologists, Univ.Delhi. ed. P. Maheshwari, 1963. — P. 69—103.
7. *Willemse M. T. M., van Went J. L.* The female gametophyte // The embyology of Fngiosperms / Ed. B. M. Johri . Berlin, New York: Springer, 1984. — P. 159—196.
8. *Бланковская Т. Ф.* Цитохимическое изучение эмбриогенеза пшеницы при отдаленных скрещиваниях // Научно-технический бюллетень ВСГИ. — 1980. — Вып. 36. — С. 35—40.
9. *Бланковская Т. Ф., Цендсуэнгийн О.* Развитие репродуктивных органов у первого и второго поколений пшенично-ржаных гибридов // Тез. докл. // II съезда УОГиС им. Н. И. Вавилова, ч. 1. - К.: Наук. думка, 1976. — С. 59—60.
10. *Бланковська Т. П., Трочинська Т. Г.* Розвиток генеративних структур пшенично-житніх гібридів першого покоління // Вісник Одеського національного університету. — 2001. — Т. 6, вип. 1. Біологія. — С. 205—208.
11. *Роскин Г Н., Левинсон Л. Б.* Микроскопическая техника. — М.: Сов. наука, 1957. — 468 с.
12. *Паламарчук И. А., Веселова Т. Д.* Учебное пособие по ботанической гистохимии. — М.: Изд-во МГУ, 1965. — 108 с.
13. *Ивановская Е. В., Профьева З. Д.* Политения в ядрах антипод пшеницы // ДАН СССР. — 1963. — Т. 152., № 2. — С. 446—449.

14. *Симоненко В.К., Мусатова Л. А.* Структура политенных хромосом антипод тритикале, пшеницы и ржи // Трета национ. конф. по цитогенетика. — София, 1984. — Т. 1. — С. 134—141.
15. *Бланковська Т. П., Шестопал О. Л., Трочинська Т. Г., Давиденко В. Л.* Антиподальний апарат злаків та продуктивність рослин // Біологічні науки і проблеми рослинництва. — Умань: УДАУ, 2003. — С. 332—337

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

МОРФОЛОГИЯ ЗАРОДЫШЕВОГО МЕШКА ВТОРОГО И ТРЕТЬЕГО ПОКОЛЕНИЙ ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ГИБРИДОВ

Резюме

Изучено развитие зародышевого мешка у второго и третьего поколений пшенично-ржаных гибридов и родительских форм. Выявлено запаздывание процессов дифференциации полюсов ценоцитного зародышевого мешка у F_2 пшенично-ржаных гибридов в сравнении с родительскими формами. У F_2 во время цветения растений зародышевый мешок остается незрелым. У F_3 развитие и строение зародышевого мешка почти не отличается от такового материнской формы.

Ключевые слова: зародышевый мешок, пшенично-ржаные гибриды.

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

MORPHOLOGY OF EMBRIO SAC OF WHEAT-RYE HIBRIDS IN THE SECOND AND THIRD GENERATIONS

Summary

The development of the embryo sac of the second and third generations of wheat-rye hybrids and parental forms is studied. The delay of the process of differentiation of coenocytic embrio sac F2 wheat-rye hybrids in comparison with primary forms was exposed. The embrio sac of F_2 wheat-rye hybrids was stayed immature during the stage of flowering of plants. The development F_3 embryo sac is nearly the same as that of the maternal form.

Keywords: embrio sac, wheat-rye hybrids.

УДК: 575.3:577.222:595.773.4

Н. Д. Хаустова, канд. биол. наук, доц., **В. Н. Тоцкий**, д-р биол. наук, профессор, зав. каф., **Нассер Мох`д Юсеф Ал-Шибли**, асп., **Н. А. Стрельцова**, инж.
Одесский национальный университет,
кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина
e-mail: caphgen_onu@mail.ru

ЧАСТОТА РЕКОМБИНАЦИЙ И ПРИСПОСОБЛЕННОСТЬ ДРОЗОФИЛЫ ПРИ СТРУКТУРНЫХ ПЕРЕСТРОЙКАХ ГЕНОТИПА

Изучали состояние компонентов приспособленности и частоту кроссинговера на участке *b – cn – vg* в зависимости от возраста дрозофилы, условий содержания и осуществленных перестроек генотипа. Обнаружено, что тройные мутанты *b cn vg* уступают мухам дикого типа по всем исследованным показателям приспособленности. Возрастные изменения компонентов приспособленности у исследованных мутантов более значительны, чем у мух дикого типа *C-S*. Установлено, что искусственное объединение в генотипе хромосом и генов разного происхождения существенно влияет на адаптивный потенциал особей и частоту рекомбинаций между генами *b* и *cn*. Выявлено определенное сходство в направленности изменений отдельных изученных показателей, наблюдаемых у мутантов *b cn vg* при их старении и искусственных изменениях генотипа.
Ключевые слова: дрозофила, генотип, компоненты приспособленности, возраст, кроссинговер, мутации.

Структурные и функциональные изменения генотипа, наступающие в ходе онтогенеза или филогенеза, могут существенно влиять на приспособленность организмов [1, 2]. Не исключено, что при старении и при искусственных перестройках генотипов могут наблюдаться сходные функциональные изменения генетического аппарата, вызванные снижением его стабильности и нарушением генного баланса. Можно ожидать определенного сходства и в динамике адаптаций генотипов при их старении и искусственных модификациях.

Анализ литературы свидетельствует, что приспособленность организмов с искусственно измененными генотипами исследована мало [3—6]. Вместе с тем широкое использование в генетике и селекции методов клеточной и генетической инженерии, а также межвидовых и насыщающих скрещиваний побуждает к изучению влияния структурных перестроек геномов и генотипов на приспособленность живых объектов.

Целью данной работы было изучение изменений частоты кроссинговера и состояния основных компонентов приспособленности в онто-

© Н. Д. Хаустова, В. Н. Тоцкий, Нассер Мох`д Юсеф Ал-Шибли, Н. А. Стрельцова, 2004

генезе *Drosophila melanogaster* при экспериментальных перестройках генотипа.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили на изосамочьих линиях *Drosophila melanogaster*, гомозиготных по хромосоме 2, где локализованы маркерные мутации *b, cn, vg*. Исследовали одинарных, двойных и тройных мутантов, мух дикого типа *Canton-S* (*C-S*), а также искусственно синтезированные формы *b cn vg* (*C-S*) и *b cn vg* (*1 C-S*). Структурные перестройки генотипа тройных мутантов осуществляли путем насыщающих и направленных скрещиваний [7], схемы которых представлены ранее [8].

Реальную плодовитость определяли по числу потомков (имаго) одной пары мух, содержавшейся в пробирке (20 мл) на протяжении 3-х дней [9].

Для определения *теплоустойчивости* мух подвергали действию сублетальной температуры (L_{150} 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. Теплоустойчивость выражали в процентах отношением числа выживших мух к числу прогретых [10, 11].

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 мух в каждой пробирке и выражали в часах, на которые пришлась гибель 50% мух.

Продолжительность жизни мух на стандартной среде и при добавлении в корм этанола (10%) 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 пришлась гибель 50% мух (L_{150}) [12].

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

Получение тригетерозигот, постановку анализирующих скрещиваний и учет кроссоверных классов осуществляли по общепринятым схемам [13—15].

Результаты исследований и их анализ

О приспособленности дрозофилы судили по плодовитости, продолжительности жизни и выживаемости в экстремальных условиях мух разного возраста.

Результаты анализа, представленные в таблице 1, свидетельствуют о различной плодовитости у исследованных возрастных групп мутантов.

Исключение составляют мухи дикого типа, обладающие максимальной плодовитостью, не изменяющейся в течение анализируемого периода. Все мутанты проявили большую плодовитость в раннем возрасте. Более плодовитыми оказались мухи линий *b*, *cn*, *cn vg*, менее плодовитыми — линий *vg*, *b cn*, *b vg* и *b cn vg*.

Таблица 1

Плодовитость исследуемых линий дрозофилы в зависимости от возраста особей, количество потомков одной пары n=20—40 семей

Линии	Возраст, дни	
	2 – 5	6 – 9
C-S	48.30 ± 1.30	52.30 ± 1.98
b	34.40 ± 0.85 ◇	28.60 ± 1.66 * ◇
cn	43.70 ± 1.36 ◇	30.20 ± 0.80 * ◇
vg	27.40 ± 0.52 ◇	16.40 ± 0.46 * ◇
b cn	28.90 ± 0.70 ◇	24.10 ± 0.46 * ◇
b vg	26.30 ± 0.59 ◇	20.70 ± 0.43 * ◇
cn vg	36.00 ± 0.39 ◇	33.60 ± 0.35 * ◇
b cn vg	23.10 ± 0.38 ◇	19.90 ± 0.43 * ◇

Примечание: * — различия достоверны по сравнению с мухами 2—5-дневного возраста. ◇ — различия достоверны по сравнению с линией *C-S*

Выявлению различающихся по приспособленности генотипов способствовали экстремальные условия (гипертермия, голодание), создаваемые в эксперименте. Результаты анализа выживаемости дрозофилы в условиях теплового шока представлены в таблице 2.

Теплоустойчивость значительно варьировала в зависимости от возраста особей. Более чувствительными к действию сублетальной температуры оказались старые мухи. Наиболее ярко эти различия проявились у мутантов *vg* и *b cn vg*. При содержании в условиях голодания самыми чувствительными оказались самцы линий *cn* и *b cn vg* (табл. 3).

Оценивая продолжительность жизни мух исследуемых линий (табл. 4), следует отметить, что наименьшая продолжительность жизни свойственна мутантам *vg* и *b cn vg*. У этих мух продолжительность жизни вдвое меньше таковой по сравнению с линией *C-S*. Добавление в корм этанола в большинстве случаев значительно удлиняло среднюю продолжительность жизни мух. Межлинейные различия при этом сохранялись.

Таблица 2

Выживаемость линейных мух разного возраста в условиях гипертермии (41 °С, 15 мин), % выживших мух
n = 20

Линии	Возраст, дни		
	1	5	15
C-S	63.69 ± 1.06 *	50.08 ± 1.32	15.56 ± 1.40 *
b	65.44 ± 2.15 *	52.17 ± 1.29	18.20 ± 1.90 *
cn	63.30 ± 1.42 *	51.58 ± 1.68	17.47 ± 1.95 *
vg	60.60 ± 3.08 *	37.42 ± 2.04 ◇	5.53 ± 0.87 * ◇
b cn vg	60.37 ± 3.83 *	42.95 ± 1.80 ◇	3.75 ± 0.71 * ◇

Примечание: * — различия достоверны по сравнению с мухами 5-дневного возраста. ◇ — различия достоверны по сравнению с линией *C-S*

В конечном итоге сравнительный анализ компонентов приспособленности мух позволил выявить среди исследованных линий высокоприспособленную — *C-S* и низкоприспособленную — *b cn vg*.

Существует мнение, что частота мейотического кроссинговера может отражать не только уровень комбинационной изменчивости генотипов, но и степень их адаптивности в конкретных условиях внешней среды [2]. Исходя из этого, мы исследовали частоту кроссинговера на участке *b-cn-vg* у мутантных мух при их старении и искусственных изменениях генотипа.

Модификацию низкоприспособленного генотипа *b cn vg* осуществляли путем его насыщения генами высокоприспособленной линии *C-S* и замещения собственной Х-хромосомы на аналогичную хромосому дикого типа [7].

Оказалось, что максимальная рекомбинационная активность свойственна мухам молодого возраста. В последующие сроки жизни (4—12 дней) частота кроссинговера устанавливается на более низком уровне, соответствующем значениям генетических карт. Однако у старых мух (23—26-дневных) наблюдали увеличение частоты кроссинговера (табл. 5). Распределение перекрестов между генами *b-cn*

и *cn-vg* было неравномерным, особенно у стареющих и старых мух. Меньшая частота кроссоверов на участке *b-cn*, возможно, объясняется его прицентромерной локализацией.

Таблица 3

Выживаемость 5-дневных самок и самцов исследуемых линий при голодании, часы (L_{t50})
n = 25—40

Линии	Самки	Самцы	Самки и самцы
C-S	47.36 ± 2.51*	38.60 ± 2.18	42.98 ± 2.21
b	65.08 ± 2.32 * ◇	49.44 ± 1.80 ◇	57.26 ± 2.57 ◇
cn	42.92 ± 1.90 *	29.16 ± 1.62 ◇	36.04 ± 1.51 ◇
vg	62.44 ± 2.38 * ◇	53.96 ± 2.66 ◇	58.20 ± 2.22 ◇
cn vg	51.90 ± 2.50 *	44.28 ± 2.26	48.64 ± 2.01
b cn vg	44.80 ± 1.20 *	29.24 ± 1.26 * ◇	37.02 ± 1.74 ◇

Примечание: * — различия достоверны по сравнению с самцами той же линии.
◇ — различия достоверны по сравнению с линией *C-S*

Частота кроссинговера как у мух, полученных в результате насыщающих скрещиваний, так и у мух, полученных путем межлинейных замещений Х-хромосомы, достоверно увеличена по сравнению с исходными тройными мутантами (табл. 6), при этом повышение рекомбинационной активности на участке *b-cn-vg* у мух с модифицированными генотипами связано в первую очередь с увеличением частоты перекрестов между генами *b* и *cn*.

Увеличение интенсивности кроссинговера у старых мух и у мух с модифицированными генотипами можно объяснить определенной нестабильностью этих генотипов из-за измененного генного баланса, что особенно вероятно при введении в генотип чужеродного генетического материала.

Вполне возможно, что при этих условиях облегчаются и становятся более частыми разрывы хроматид, особенно в местах скопления гетерохроматина.

Интересно сопоставить частоту рекомбинационных процессов у исследуемых мух с показателями их приспособленности (табл. 7).

Таблица 4

Продолжительность жизни мух исследуемых линий при разных условиях их содержания, дни (L_{t50})
n =20—80

Линии	Условия содержания	
	Стандартная среда (контроль)	Среда с этанолом (10 %)
C-S	10.16 ± 0.64	25.46 ± 1.07 *
b	12.96 ± 1.32	21.50 ± 1.17 *
cn	8.26 ± 0.33	23.65 ± 1.15 *
vg	5.30 ± 0.26 ◇	6.10 ± 0.47 ◇
b cn vg	5.00 ± 0.97 ◇	9.56 ± 0.74 * ◇

Примечание: * — различия достоверны по сравнению с контролем. ◇ — различия достоверны по сравнению с линией *C-S*

Как насыщение генотипа *b cn vg* генами мух *C-S*, так и введение хромосомы 1 мух дикого типа удлиняло сроки жизни голодающих мутантов b cn vg практически до уровня этого показателя у линии *C-S*. Увеличивалась также продолжительность жизни мух с замещенным генотипом при стандартных условиях их содержания. Что касается теплоустойчивости, то достоверное повышение этого показателя обнаружено только при замещении хромосомы 1. Наименее изменчивым в условиях опытов оказался один из основных показателей приспособленности — плодовитость особей. По-видимому, морфологические и физиологические изменения фенотипа мутантов *b cn vg*, обусловленные плейотропным действием мутаций, оказывают существенное негативное влияние на формирование уровня репродуктивной способности этих мух.

В заключение следует отметить, что суммарный эффект маркерных мутаций зависит от возраста мух, температурных и диетических условий их содержания, а также от структурных особенностей генотипа.

Опыты на тройном мутанте *b cn vg* показали, что старение мух и искусственное вмешательство в их генотип могут сходным образом повышать частоту кроссинговера на участке *b-cn-vg*.

Таблица 5

Частота кроссинговера на исследуемом участке хромосомы 2 разновозрастных мутантов *b cn vg*, %
n = 15—20 семей

Участок хромосомы 2	Возраст самок, дни				
	1 – 3	4 – 6	7 – 9	10 – 12	23 – 26
b - cn	15.23± 2.48 *	7.42± 1.21 ◇	7.91± 1.11	8.63± 1.04 ◇	12.20± 1.50 * ◇
cn - vg	18.21± 0.81 *	12.55± 1.38	10.52± 1.25	13.88± 1.26	16.71± 1.08 *
b - vg	33.44± 3.84 *	19.97± 1.44	18.43± 1.57	22.51± 1.91	30.6± 1.71 *

Примечание: * — различия достоверны по сравнению с соответствующим показателем у мух 7—9-дневного возраста. ◇-частота кроссинговера на участке *b — cn* достоверно отличается от частоты кроссинговера на участке *cn – vg*

Таблица 6

Частота кроссинговера (%) у пятидневного мутанта *b cn vg* при искусственных изменениях структуры генотипа
n = 15—20 семей

Участок хромосомы 2	Исследуемые мутанты		
	b cn vg	*b cn vg (C-S)*	*b cn vg (1 C-S)*
b – cn	7.42 ± 1.21	13.64 ± 1.74 *	11.53 ± 1.00 *
cn – vg	12.55 ± 1.38	13.93 ± 1.20	12.46 ± 1.17
b – vg	19.97 ± 1.44	27.57 ± 1.85 *	23.99 ± 1.30 *

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

Положительный эффект искусственных модификаций генотипа тройных мутантов, проявляющийся в отдельных фенотипических признаках, можно связать с особенностями внедренных генов дикого типа, имеющих более высокий адаптивный потенциал, чем собственные гены мутанта.

Таблица 7

Компоненты приспособленности исходных линий дрозофилы и форм с измененными генотипами
n = 20—80

Показатели приспособленности	Исследуемые формы			
	C-S	*b cn vg*	*b cn vg (C-S)*	*b cn vg (1 C-S)*
Плодовитость, количество потомков одной пары 5-дневных мух	49.01± 3.21 *	23.87± 1.15	20.94± 1.24	24.20± 1.71
Продолжительность жизни (L_{150}), дни	11.99± 0.85*	6.31± 0.57	11.89± 0.82 *	7.84± 0.66
Продолжительность жизни при голодании (L_{150}), часы	42.98± 2.21*	37.02± 1.74	44.20 ±1.44 *	43.31± 1.67 *
Теплоустойчивость 5-дневных мух, %	50.08± 1.32 *	42.95± 1.80	41.97± 2.25	50.29± 1.37 *

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

Негативные сдвиги, обнаруженные со стороны рекомбинационных процессов при искусственных перестройках генотипов, можно объяснить нестабильностью последних, возникающей при внедрении чужеродного генетического материала.

Все вышеизложенное следует учитывать в селекции при создании форм с замещенными хромосомами, при генно-инженерных преобразованиях генотипов, а также при разработке генетических теорий развития и старения.

Выводы

1. Приспособленность, определяемая по плодовитости, продолжительности жизни и устойчивости к экстремальным факторам, варьирует у исследованных линий мух в зависимости от генотипа и возраста особей.
2. Тройные мутанты *b cn vg* уступают мухам дикого типа по всем исследованным показателям приспособленности.
3. Замещение хромосомы 1 и насыщение генотипов тройных мутантов генами линии *C-S* приводят к повышению рекомбинационной активности и увеличению приспособленности.

Литература

1. *Тоцкий В. Н., Хаустова Н. Д., Алшибли Н. М., Сечняк А. Л.* Генетико-биохимические механизмы онтогенетической и филогенетической адаптации // Цитология и генетика. — 2002. — Т. 36. — № 3. — С. 69—75.
2. *Жученко А. А.* Экологическая генетика культурных растений. — Кишинев: Штиинца, 1980. — 583 с.
3. *Тоцкий В. Н., Хаустова Н. Д., Моргун С. В., Левчук Л. В.* Ген-энзимная система алкогольдегидрогеназы при замещении хромосом и других изменениях генотипа у *Drosophila melanogaster* // Укр. биохим. журн. — 1998. — Т. 70. — № 5 — С. 42—51.
4. *Левчук Л. В., Тоцький В. М.* Заміщення хромосом і пристосованість генотипів *Drosophila melanogaster* // Цитология и генетика. — 1998. — Т. 32. — № 2. — С. 42—48.
5. *Хаустова Н. Д., Моргун С. В.* Ген-энзимная система АДГ и приспособленность мутантов Drosophila melanogaster // Генетика. — 1999. — Т. 35. — № 5 — С. 600—605.
6. *Моргун С. В., Левчук Л. В.* Пристосованість *Drosophila melanogaster* за штучних змін генотипів // Вісник Одеського державного університету. — 1999. — Т. 3. — Вип. 4. — С. 36—40.
7. *Luckinbill L. S., Graves J. L., Reed A. H., Koetsawang S.* Localizing genes that defer senescence in *Drosophila melanogaster* // Heredity. — 1988. — Vol. 60. — № 3. — P. 367—374.
8. *Хаустова Н. Д., Алшибли Насер, Тоцкий В. Н., Блажнова Е. В.* Частота рекомбинаций как показатель генного баланса и приспособленности дрозофилы // Вісник Одеського національного університету. — 2003. — Т. 8. — Вип. 1. — С. 86—92.
9. *Хаустова Н. Д.* Локус *Adh Drosophila melanogaster* в условиях отбора на задержку старения // Генетика. — 1995. — Т. 31. — № 5. — С. 646—651.
10. *Некрасова А. В., Шахбазов 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.
11. *Страшнюк В. Ю., Воробьева Л. И., Шахбазов В. Г.* Вклад гетерозиготности по хромосоме 2 в эффект гетерозиса у *Drosophila melanogaster* // Генетика. — 1985. — Т. 21. — № 11. — С. 1828—1833.
12. *Dorado G., Barbancho M.* Differential responses in D. melanogaster to environmental ethanol: modification of fitness components at *Adh* locus // Heredity. — 1984 — Vol. 53 — № 2. — P. 309—320.
13. *Медведев Н. Н.* Практическая генетика. — М.: Наука, 1968. — 293 с.
14. *Лобашев М. Е.* Генетика. — Л.: ЛГУ, 1967. — 750 с.
15. *Тоцький В. М.* Генетика. — Одеса: Астропринт, 2002. — 709 с.

Н. Д. Хаустова, В. М. Тоцький, Нассер Мох`д Юсеф Ал-Шіблі, Н. А. Стрельцова
Одеський національний університет,
кафедра генетики та молекулярної біології
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна.

ЧАСТОТА РЕКОМБІНАЦІЙ І ПРИСТОСОВАНІСТЬ ДРОЗОФІЛИ ЗА СТРУКТУРНИХ ПЕРЕБУДОВ ГЕНОТИПУ

Резюме

Отримано дані про стан компонентів пристосованості у різних мутантних ліній *Drosophila melanogaster*, а також про частоту кросинговеру на ділянці *b - cn - vg* залежно від віку мух, умов їх утримання й штучно здійснених перебудов генотипу. Показано, що вікові зміни компонентів пристосованості у досліджуваних носіїв мутантних генів більш значні, ніж у мух дикого типу *C - S*. Встановлено, що насичення генотипу мутанта *b cn vg* генами мух *C - S* або заміщення його хромосоми

1 на гомологічну хромосому мух *C-S* супроводжується підвищенням частоти кросинговеру на ділянці *b - cn - vg*.

Ключові слова: дрозофіла, генотип, компоненти пристосованості, вік, кросинговер, мутації.

N. D. Khaustova, V. N. Totsky, Nasser Moh`d Usef Al-Shibly, N. A. Streltsova
Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya Str., 2, Odessa, 65026, Ukraine.

RECOMBINATION FREQUENCY AND FITNESS OF DROSOPHILA UNDER THE STRUCTURAL REORGANIZATIONS OF A GENOTYPE

Summary

It was determined that saturation of the mutant genotype *b cn vg* by the genes of flies *C - S* or the displacement of its chromosome 1 on a homologous chromosome of flies *C - S* leads to increasing of the frequency of the crossing over in the field *b - cn - vg*. Thus the frequency of the crossing over under the artificial changes of the genotype increases in the field *b - cn*, but does not change in the field *cn - vg*. It is shown that the age changes of the fitness components for the investigated bearers of the mutant genes are more significant than for flies of the wild type *C - S*. The proofs of availability in the genotype of flies of the line *C - S* genes which are capable to improve the parameters of fitness components for the mutants *b cn vg* are obtained

Keywords: Drosophila, the genotype, fitness components, age, crossing over, mutations.

УДК -581.3:633.16

О. Л. Шестопал, асп., **Е. І. Мехова**, студ., **Е. А. Гочева**, студ.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра генетики і молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна e-mail: i.zambriborsh@paco.net

АНТИПОДАЛЬНИЙ КОМПЛЕКС ДВОРЯДНОГО ЯЧМЕНЮ ЗА РІЗНИХ УМОВ ВИРОЩУВАННЯ

Проведено порівняльне дослідження кількості та каріометричних показників клітин антипод сортів дворядного ячменю за різних умов вирощування. Виявлено, що кількість антипод у сортів розрізняється та залежить від умов вирощування. Середні об'єми ядер і ядерець антипод ячменю в польових умовах майже в півтора рази більші, ніж у оранжерейних рослин. Сумарні об'єми ядер і ядерець всіх клітин-антипод в зародковому мішку ячменю за умов вирощування в полі і в оранжереї співпадають.
Ключові слова: ячмінь, антиподи, каріометрія

Антиподи злаків є одним із елементів складної провідної системи насіневого зачатка, зав'язі, колоска, колоса і рослини в цілому. Основна їх функція — диференційне поглинання і направлений транспорт поживних речовин та метаболітів з материнського організму в зародковий мішок [1—4]. Число і форма антипод у зрілому зародковому мішку (ЗМ) злаків варіює як у межах видів та сортів, так і в межах одного колоса. Якщо в сформованому ЗМ їх звичайно буває три, то в зрілому комплекс антипод у більшості представників сімейства *Poaceae* складається з 30—60 клітин, а в бамбука — навіть з 300 [5].

Після припинення мітозів, тобто після завершення раннього диференціювання (за Івановською), відбувається політенізація хромосом — кінцеве диференціювання [6, 4]. Внаслідок цього ядра антипод збільшуються в 3—10 разів [7]. Антиподи відіграють важливу роль у синтезі і транспорті речовин, їхня кількість і розміри не можуть не позначитися на розвитку зародка, ендосперму і зернівки в цілому [8]. В одних видів та сортів антипод багато, але вони невеликі. В інших, навпаки, клітин-антипод менше, але вони мають більш значні розміри. Відомо, що за різних умов вирощування рослин (тепло, холод), темпи ембріогенезу та маса одержаного насіння відрізняються [7, 9, 10, 11]. Метою даної роботи було дослідити характер змін у будові антиподального комплексу ячменю за різних умов вирощування донорних рослин.

Матеріал та методи дослідження

Об'єктом дослідження були зав'язі дворядного ячменю (*Hordeum distichum* L.) — сортів Незалежний, Первенець та Екзотик, у яких

© О. Л. Шестопал, Е. І. Мехова, Е. А. Гочева, 2004

попередні дослідження [10] виявили різницю в кількості клітин в антиподальному комплексі та в їх об'ємах. Ячмінь вирощували в полі та в оранжереї (нічна температура — 14—16 °С, денна — 18—20 °С; освітлення — 2,5 тис. люкс).

Зав'язі із зрілим зародковим мішком фіксували за Навашиним, мікротомні зрізи 15—20 мкм завтовшки забарвлювали бромфеноловим синім [12]. Кількість клітин в антиподальному комплексі визначали, підраховуючи їх ядра на всіх зрізах зав'язі. У зв'язку з тим, що клітини антипод мають неправильну форму і їх об'єм визначити складно, розміри цих клітин оцінювали за об'ємом ядер, бо ядерно-цитоплазматичне співвідношення є постійною величиною [13]. Діаметри ядер та ядерець вимірювали за допомогою гвинтового окуляр-мікрометра МОВ-1-15Х.

Об'єми визначали за формулою для еліпсоїда:

$$V = 4/3\ ab^2,$$

де a — велика, b — мала піввісь. Ядерно-ядерцеве співвідношення (далі ЯЯС) визначали за формулою:

$$\frac{\text{V ядра} - \text{V ядерця}}{\text{V ядерця}}$$

Крім середніх об'ємів, визначали суму об'ємів ядер і ядерець всіх клітин-антипод зародкового мішка (сумарні об'єми). Одержані результати обробляли варіаційно-статистичним методом [14].

Результати дослідження та їх аналіз

Головними показниками, що характеризують будову антиподального комплексу злаків, є кількість клітин, які входять до його складу, та їх каріометричні показники (середні об'єми ядер та ядерець).

В результаті проведених досліджень показано, що найбільший розбіг величин був у зародковому мішку сорту Первенець, де кількість антипод коливалась від 24 до 41 клітини (в умовах оранжереї) та від 14 до 25 (в полі). Коливання кількості антипод в зародковому мішку двох інших досліджених сортів — Незалежний і Екзотик — було незначним (рис. 1).

Середня кількість антипод в умовах оранжереї у сортів Первенець та Екзотик була достовірно більшою ($P < 0{,}001$ і $P < 0{,}05$ відповідно), ніж в польових умовах. Різниця між кількістю антипод в зародковому мішку польових та оранжерейних рослин була тим вищою, чим меншою була кількість клітин антипод у польових рослин. Так, для сорту Незалежний згадана різниця в кількості антипод взагалі не була достовірною, для сорту Екзотик ця достовірність (P) складала $< 0{,}05$, а для сорту Первенець — $P < 0{,}001$.

Таким чином, кількість антипод у зрілому зародковому мішку варіює як у різних сортів ячменю, так і у межах одного сорту за різних умов вирощування.

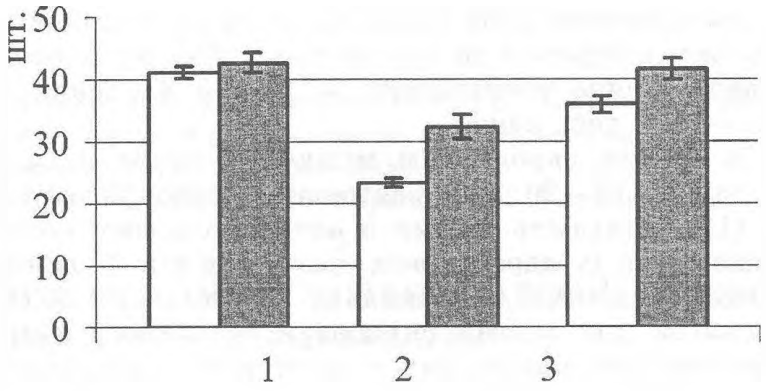


Рис. 1. Кількість клітин антипод в зародковому мішку сортів ячменю за різних умов вирощування донорних рослин:
□ — рослини, вирощені в полі; ▩ — рослини, вирощені в умовах оранжереї
1 — сорт Незалежний; 2 — сорт Первенець; 3 — сорт Екзотик

Аналіз розміру антипод виявив варіювання їх у межах одного зародкового мішка. Найбільший середній об'єм ядер і ядерець клітин антиподального комплексу в умовах поля спостерігали у зав'язях сорту Первенець (рис. 2 *а*, 2 *б*) . Щодо двох інших сортів, то об'єми їх ядер не відрізнялися, а ядерця мали більший об'єм у сорту Екзотик ($P < 0,05$). В умовах оранжереї сорти за об'ємом ядер антипод розподілилися майже протилежно: більші ядра мали антиподи сорту Незалежний, а менші — сорту Первенець ($P < 0,001$ і $P < 0,02$ відповідно).

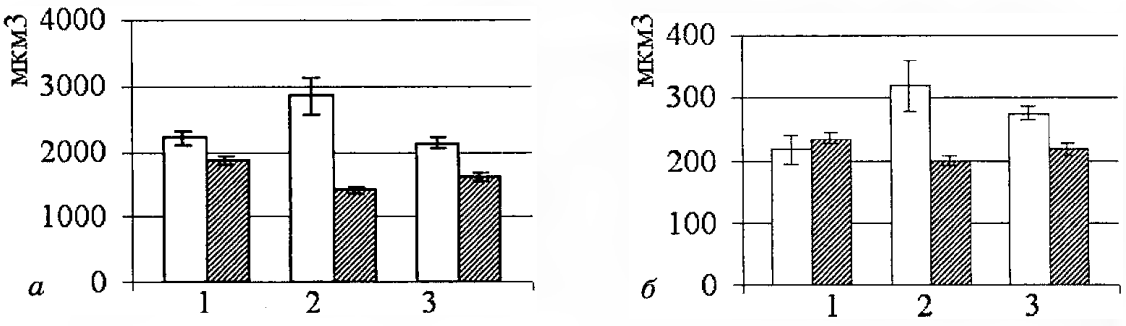


Рис. 2. Міжсортові відмінності об'ємів ядер (*а*) та ядерець (*б*) антипод ячменю за різних умов вирощування рослин:
□ — рослини, вирощені в полі; ▩ — рослини,вирощені в умовах оранжереї
1 — сорт Незалежний; 2 — сорт Первенець; 3 — сорт Екзотик

Слід зазначити, що за оранжерейного вирощування рослин сортів Незалежний і Екзотик середній об'єм ядер їх антипод був меншим в середньому в 1,25 рази, ніж за вирощування цих рослин у полі. У сорту Первенець це зменшення розмірів ядер було більш значним — майже в 2 рази (рис. 2 *а*).

Вплив різних умов вирощування на розмір ядерець виявився неоднозначним (рис. 2 *б*). Так, клітини сорту Незалежний мали найменший об'єм ядерця незалежно від умов вирощування рослин, і цей об'єм в умовах штучного клімату не змінювався. В протилежність цьому два інших сорти мали ядерця більш значні за розмірами і на умови оранжереї відповідали істотним зменшенням каріометричних показників.

Як було показано раніше для пшениці та ячменю [10, 15], необхідний рівень фізіологічної активності клітин антиподального комплексу кожного виду та сорту досягається за рахунок сумарної комбінації певної кількості клітин та розміру їх ядер та ядерець. Можна припустити, що за несприятливих умов навколишнього середовища (низька температура, слабке освітлення і т. п.) вихід на звичний рівень активності антиподального комплексу для виконання його функцій може досягатися двома шляхами — або збільшенням кількості клітин при зменшенні їх об'єму, або, навпаки, збільшенням об'єму клітин на фоні зменшення їх кількості. Наші дослідження підтверджують першу гіпотезу, яка узгоджується з розрахованою нами негативною кореляційною залежністю ($P < 0,05$) кількості антипод та їх об'єму ($r = -0,95$; $n = 5$).

Ефективність роботи антиподального комплексу найбільш інформативно визначається за сумарним об'ємом ядер і ядерець всіх антипод в одному зародковому мішку [11]. Величини сумарного об'єму ядер (рис. 3 *а*) сортів Незалежний і Екзотик співпадали і не залежали від умов вирощування донорних рослин. Лише у сорту Первенець сумарний об'єм ядер антипод був різним залежно від умов вирощуванння рослин ($P < 0,01$), що можна пов'язати з істотним зменшенням об'ємів ядер (майже удвічі) в умовах штучного клімату. Спостереження за показниками сумарного об'єму ядерець у сортів за різних умов вирощування рослин різниці не виявили (рис. 3 *б*).

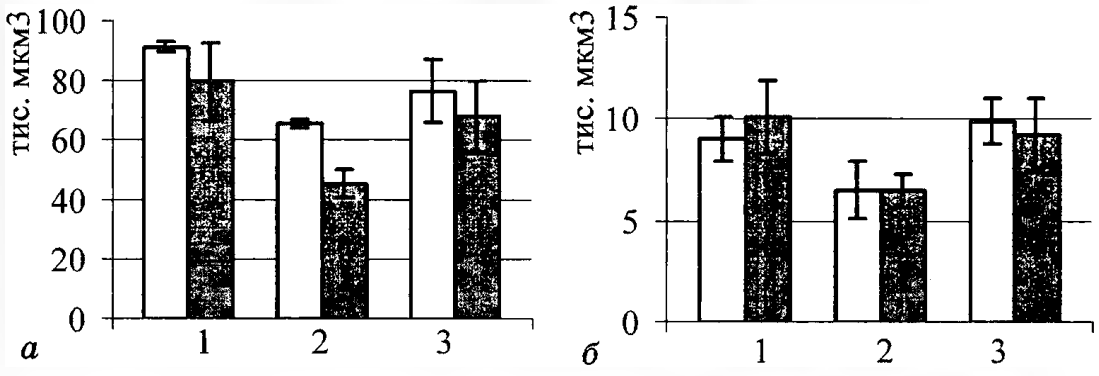


Рис. 3. Сумарні об'єми ядер (*а*) та ядерець (*б*) антипод ячменю за різних умов вирощування:

□ — рослини, вирощені в полі; ■ — рослини, вирощені в умовах оранжереї

1 — сорт Незалежний; 2 — сорт Первенець; 3 — сорт Екзотик

Показники ЯЯС антипод у сортів Незалежний та Первенець за вирощування їх у полі не відрізнялися, а в оранжерейних рослин ці величини були достовірно меншими ($P < 0,01$ і $P < 0,05$ відповідно). Для сорту Екзотик величина ЯЯС залишалася незмінною незалежно від умов вирощування рослин (рис. 4). Невелике значення ЯЯС свідчить про високу функціональну активність клітин антипод перед заплідненням. Можливо, що у сортів з меншим значенням ЯЯС антипод у зародковому мішку будуть складатися більш сприятливі умови для подальших процесів ендоспермогенезу та ембріогенезу, що має позначитися на врожаї рослин. Отримані дані посередньо підтверджують це припущення: була виявлена достовірна ($P < 0,001$) негативна кореляція ($r = -0,99$; $n = 5$) між величиною показника ЯЯС і масою 1000 зерен (для рослин, вирощених у полі).

Зниження ЯЯС у оранжерейних рослин відбувається за рахунок більшого зменшення об'єму ядер, ніж об'єму ядерець. Цей факт дає підставу припустити, що інтенсивність процесу синтезу р-РНК зростає. Не виключено, що збереження досить великого об'єму ядерець в оранжерейних рослин за низьких температур та освітлення відбувається не за рахунок підтримки високого рівня експресії генів р-РНК, а за рахунок зміни інтенсивності процесингу РНК-попередників та збірки рибосомних субодиниць. Для вирішення цього питання необхідні подальші досліди.

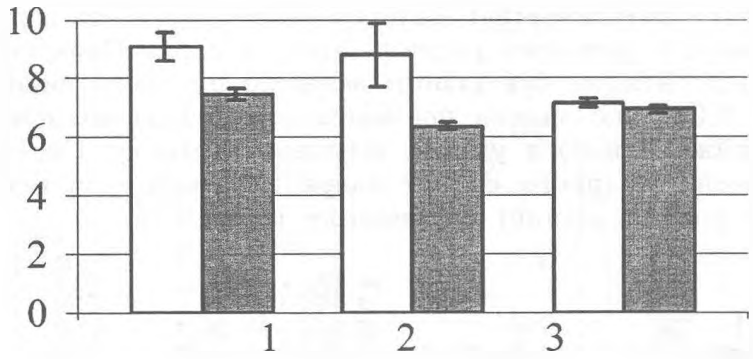


Рис. 4. Показник ЯЯС клітин антиподального комплексу сортів ячменю за різних умов вирощування донорних росли:
□ — рослини в полі; ■ — рослини в умовах оранжереї
1 — сорт Незалежний; 2 — сорт Первенець; 3 — сорт Екзотик

Висновки:

1. Умови вирощування рослин суттєво впливають на будову антиподального комплексу (на кількість клітин антипод, на розміри їх ядер і ядерець);
2. Сумарні об'єми ядер і ядерець антипод не залежать від умов вирощування рослин.

Література

1. *Батыгина Т. Б.* Хлебное зерно: Атлас. — Л.: Наука, 1987. — 102 с.
2. *Ивановская Е. В., Прокофьева З. Д.* Политения в ядрах антипод пшеницы // ДАН СССР. — 1963. — Т. 152, № 2. — С. 446—449.
3. *Жукова Г. Я., Батыгина Т. Б.* Антиподы // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепция. Генеративные органы цветка — Санкт-Петербург: Мир и семья, 1994. — Т. 1. — С. 199—202.
4. *Симоненко В. К., Мусатова Л. А.* Структура политенных хромосом антипод тритикале, пшеницы и ржи // Трета Национал. конф. по цитогенетика. — София, 1984. — Т. 1. — С. 134—141.
5. *Кордюм Е. Л.* Эволюционная цитоэмбриология покрытосеменных растений. — Киев: Наук. думка, 1978. — 219 с.
6. *Ивановская Е. В.* Цитоэмбриологическое исследование дифференцировки клеток растений. — М.: Изд-во МГУ, 1983. — 152 с.
7. *Бланковская Т. Ф.* Морфо-функциональные аспекты развития генеративных структур хлебных злаков: Автореф. дис. д-ра биол. наук. — Санкт-Петербург, 1992. — 31 с.
8. *Engell K.* Embryology of barley. IV. Ultrastructure of the antipodal cell of Hordeum vulgare L. cv. Bomi before and after fertilization of the egg cell // Sexual Plant Reproduction. — 1994. — V. 7, № 6. — P. 333—346.
9. *Бланковська Т. Ф., Трочинська Т. Г.* Розвиток зародкового мішка у другого та третього поколінь пшенично-житніх гібридів // Вісник ОДУ. — 2002. — Т. 7, № 1. — С. 243—248.
10. *Бланковська Т. Ф., Шестопал О. Л.* Кількість та розміри антипод шестирядного та дворядного ячменю // Вісник ОДУ. — 2002. — Т. 7, № 1. — С. 249—253.
11. *Бланковская Т. Ф., Сурикова Е. С.* Количество и размер клеток антиподального комплекса в зрелом зародышевом мешке пшеницы // Научно-технич. бюлл. Сел.-генетического ин-та. — 1993. — № 2 (84), — С. 43—46.
12. *Паламарчук И. А., Веселова Т. Д.* Учебное пособие по ботанической гистохимии. — М., — 1965. — 108 с.
13. *Hertwig R.* Uber Korrelationen von Zell — und Kerhgro?e und ihre Bedeutung fur die geschlechtlichen Differenzierung und die Teilung der Zelle // Biol. Zbl. — 1903. — V. 23, № 2. — P. 8—14.
14. *Плохинский Н. А.* Алгоритмы биометрии. — М.: Из-во МГУ, 1980. — 150 с.
15. *Бланковська Т. П., Білодід Л. М.* Розміри ядерець клітин зародкового мішка багаторядного ячменю // Вісник ОДУ. — 1998. — № 2. — С. 115—117.

О. Л. Шестопал, Е. И. Мехова, Е. А. Гочева

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра генетики и молекулярной биологии,

ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина, e-mail: i.zambriborsh@paco.net

АНТИПОДАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ДВУРЯДНОГО ЯЧМЕНЯ ПРИ РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ ВЫРАЩИВАНИЯ

Резюме

Проведено сравнительное исследование количества и кариометрических показателей клеток антипод сортов двурядного ячменя в разных условиях выращивания. Установлено, что количество антипод у сортов различно и зависит от условий выращивания. Средний объём ядер и ядрышек антипод ячменя в полевых условиях почти в полтора раза больше, чем эти показатели у оранжерейных растений. Суммарные объёмы ядер и ядрышек всех клеток-антипод в зародышевом мешке ячменя при выращивании в поле и в оранжерее совпадают.

Ключевые слова: ячмень, антиподы, кариометрия.

O. L. Shestopal, E. I. Mehova, E. A. Gocheva
Odessa State University, Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine, e-mail: i.zambriborsh@paco.net

ANTIPODAL COMPLEX OF TWO — ROWED BARLEY UNDER DIFFERENT GROWING CONDITIONS

Summary

The comparative research of number and karyometrical parameters of antipodal cells under different growing conditions of two-rowed barley cultivars has been performed. It is shown that the number of antipodes varies in different cultivars and depends on growing conditions. The average volumes of antipodal nuclei and nucleoli of plants having been grown under the field conditions are in 1,5 times higher then those of plants grown under greenhouse conditions. The total volumes of nuclei and nucleoli in the embryo sac coincide under the field and greenhouse conditions.

Keywords: barley, antipode, karyometriya.

ЕКОЛОГІЯ

УДК 636.082.11:636.1.061

М. О. Шалімов, д-р с.-г. наук, проф.
Одеська державна академія холоду, кафедра інженерної теплофізики,
вул. Дворянска, 1/3, Одеса, 65026, Україна, e-mail: shalimo@mail.ru

ДЕЯКІ ЕКОЛОГО-ГЕНЕТИЧНІ ПРОБЛЕМИ ФОРМУВАННЯ ЕКОТИПІВ ССАВЦІВ

Проведено аналіз генетичних особливостей реалізації в онтогенезі різних екотипів тварин за трьома генетично детермінованими рівнями толерантності. Обговорюється важливість реалізації генетичного потенціалу продуктивності тварин в окремих детермінованих діапазонах адаптивності.
Ключові слова: адаптація, детермінація, екотип, толерантність.

В сучасній біології створені всі умови для вирішення проблеми оптимізації генетично обумовлених формоутворюючих процесів на основі нових генетичних і фізіологічних уявлень про організм [1, 2]. Синтез наукових напрямів (теорія фізіологічних градієнтів, локальних інформаційних детермінант, вчення про детермінацію, теорія філембріогенезу, вчення про канал руху успадкованності) дозволили відкрити взаємозв'язок між ефективністю функціонування генетичного апарату і функціональною активністю реакцій адаптації при формуванні домінант різних екотипів.

Визначення амплітуди толерантності організмів до різних факторів середовища лежить в основі біоіндикації типів режимів безпосередньо діючих факторів і їх комбінацій (екотопів). Кожен тип екотопу може бути охарактеризований із двох сторін: з погляду придатності режимів розглянутих факторів для окремих видів однієї екоморфи через коефіцієнт задовільності середовища і з погляду загальної комфортності екотопу, тобто якості середовища взагалі через коефіцієнт комфортності [2].

Взаємодія організму і середовища виявляється, головним чином, при переміщенні тварин з одного середовища в інше. Взаємодія генотип — середовище найбільш істотно виявляється у тварин з високим адаптивним потенціалом, у яких при зміні екологічних умов значення продуктивних чи відтворних ознак різко збільшується. Такий неоднаковий прояв ознаки можна пояснити зміною типу реакції тварин на умови середовища, що визначається умовами екогенезу популяції.

Вивчити діяльність своєрідного формоутворювального апарату можливо лише побічно шляхом аналізу різноманітних фенотипових виявів ознак індивідуального росту і продуктивності. Ознаки виникають в процесі індивідуального розвитку, який включає два взаємопов'язаних процеси: диференціацію і ріст [3]. За цих процесів відбува-

© М. О. Шалімов, 2004

ється реалізація успадкованої інформації вихідної статевої клітини в умовах середовища. Однак механізми, які забезпечують диференціацію клітин в процесі онтогенезу остаточно ще не встановлені. Вважають, що детермінація здійснюється шляхом ланцюга реакцій, які обумовлюють певну послідовність формування відповідних органів і ознак [4-5]. Такий підхід дозволяє з'ясувати, як генетична інформація реалізується в онтогенезі. Пізнанню глибинних механізмів формоутворення сприяє, на нашу думку, створенню загальної теорії конституції, яка спонукає до перегляду багатьох областей біології.

Оцінка становлення ознак організму в ембріогенезі — одна із головних ланок у вивченні механізму прояву домінанти найбільш толерантного екотипу в наших дослідженнях. Слід підкреслити, що ці дослідження — не побудова загальної теорії конституції, а тільки спроба творчого синтезу, систематизації, узагальнення нагромаджених знань. Потрібен каркас ідей — узагальнена теорія, яка добре узгоджується з відомими фактами і лежить в основі вчення про конституцію. Виявити раціональні ідеї майбутньої теорії формування екотипів — одна із головних задач даного дослідження. Ми не переслідували мету перевірити взаємодію кількісних і якісних біохімічних компонентів клітин — організаторів формоутворювальних процесів в організмі. Наша мета — перевірити обґрунтованість ідеї про важливість біогенетичного закону для розуміння ролі координуючих онтогенез процесів у формуванні домінанти екотипів.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктом досліджень слугували тварини червоної молочної породи в БФК "Нива" Овідіопольського району Одеської області. В процесі виконання роботи використовували класичні, а також власні методи вивчення специфіки екотипів молочної худоби. Екологічні типи диференціювали шляхом співставлення результатів досліджень за аналізу функцій, структури типів, ступеня пристосованості тварин до умов середовища. При цьому використовували власні методичні розробки по удосконаленню оцінки екотипів. Розроблено та апробовано номографічний спосіб індивідуальної оцінки екотипу, який оснований на поєднанні графічного відображення основних параметрів екотипу.

Розробку еколого-біологічних основ детермінації екотипів здійснювали з урахуванням модусу філембріогенезу, який характеризує той чи інший екотип. Визначення динамічного метаморфозу проведено на основі даних про крупноплідність (живу масу) худоби, темпів росту та розвитку, відношення частин тіла у новонароджених особин. Все це дозволило отримати уяву про механізм формоутворювального процесу домінанти екотипу та виявити його фази: I — поява відмінних морфологічних закладок тканин і органів (30—60-й день ембріонального розвитку); II — перехід ембріона в плід, що формується (понад

60 днів); III — фази, регулюючі послідовність процесів росту і розвитку в організмі (3, 9—12, 15—18, 24—27 міс.).

Результати дослідження та їх аналіз

На думку вчених, головним об'єктом порівняльно-морфологічного вивчення будь-якої живої форми повинен бути формоутворювальний апарат [2], тобто існування в індивідуальному розвитку двох взаємодіючих компонентів: індукуючого та реагуючого на індукцію. Ці взаємопов'язані компоненти і є тим конкретним матеріальним елементом індивідуального розвитку, а саме формоутворювальним апаратом, який повинен розглядатися як основна одиниця цього розвитку. Тому пізнання глибинних основ механізмів формоутворювання можливе лише тільки через вивчення формоутворювальних апаратів. Більш того, не тільки онтогенез в цілому є багатоетапним процесом, але й розвиток кожного органу або окремої його частини характеризується багатофазністю. Впливання ембріонального середовища (формативний вплив) "детермінує в визначений момент розвитку долю окремих частин зародка і можна вважати, що у більшості випадків таких моментів виявляється декілька" [2, 6].

Наші дослідження підтверджують наведену гіпотезу. Для цього довелося провести два етапи досліджень. На першому етапі важливо було встановити сам факт наявності того чи іншого диференціювання, факт взаємодії індукуючого і реагуючого компонентів — формоутворювального апарату. На другому етапі, одержавши перші дані про існування формоутворювального апарату [7], вивчали можливості елементарної одиниці онтогенезу в різні періоди функціонування. Ця мета була досягнута шляхом зміни умови досліду на тих же об'єктах. При цьому ми виходили з того, що за впливу навколишнього середовища, його змінних умов слід вбачати не зміну спадковості, а "...важливі засоби пізнання її різноманітності, розкриття змісту тієї її властивості, яку сьогодні називають нормою реакції" [цит. за 2]. Усі зміни екотипів тварин, які виникають мутаційно, комбінаційно і під впливом екзогенних факторів, знаходяться під контролем спадковості. Тому і "...результативний ефект фенотипового різноманіття ознак (маси) слід розглядати в генетичному плані як норму реакції генотипу" [4].

Вивчення механізму формування домінанти будь-якого екотипу показало, що екотипи не обов'язково повинні постійно залишатися константними в процесі онтогенетичної адаптації. Можливе спонтанне, "штовхоутворювальне" [5] перетворювання в інші екотипи. Цей процес забезпечують мутації. Не треба думати, що мутації нащадків будуть відповідати флуктуаціям батьків. Саме за рахунок мутацій і відбувається розширення успадкованої основи для добору.

Проте це не завжди здійснюється за визначеним правилом; періоди депресії та підйому темпів росту можуть бути різної тривалості. Індивідуальні відмінності тварин у цьому відношенні досить значні: вони залежать від спадкових факторів — їх структури і мутабільності. Онтогенез являє собою складний багатоступеневий процес реалізації генетичної програми, який вимагає оптимального рівня умов для життя даного організму.

Встановлено, що формування екотипів відбувається в передплідний період онтогенезу (рис. 1, *в*) і для нього характерні різні рівні генетично детермінованої функціональної толерантності (РГД ФТ) організму (рис. 1, *а*).

В залежності від інтенсивності розвитку і якісних своєрідних частин організму, що розвивається, виділені фази детермінації домінанти (I, II, III) екотипів (рис. 1, *в*). Незважаючи на їх широке розповсюдження і універсальність, детермінації як самостійні фази формування екотипів до сьогоднішнього часу не розглядалися, хоч саме явище досліджувалося вже давно. Звичайно, детермінації носять як більш тривалий, так і менш тривалий характер: інтенсивна тривалість росту при повільному розвитку характеризує ейрисомний екотип, а помірна інтенсивність росту та ранній розвиток — лептосомний екотип. За нашими даними [7], неповноцінна годівля корів в передплідний період формувала таку домінанту екотипу, при якій народжені телички ставали надалі коровами з пониженою молочною продуктивністю лептосомного екотипу. Процес формування тварин визначених типів в більшості випадків був складним та проходив у багатьох тварин з характерною зміною типових особливостей в окремі періоди онтогенезу.

Невизначені зміни детермінуючих фаз органів і тканин організму в процесі індивідуального розвитку свідчать про те, що типові відмінності формуються остаточно не зразу. Фази детермінацій домінанти екотипів стають достатньо жорстко детермінованими в третій фазі передплідного періоду (рис. 1, *в*) і в постфетальному періоді онтогенезу (рис. 1, *г*). В жорсткому діапазоні йде формування і деяких фенотипових ознак організму. Будь-яка зміна умов середовища і відхилення параметрів реалізації успадкованого потенціалу екотипу від оптимального рівня (основного РГД ФТ, рис. 1, *а*) негайно сприймається генетичним апаратом організму. Саме це забезпечує визначені норми реакції генотипу на середовище для відновлення або перебудови різних ресурсів організму, і ця динамічна якість обумовлює найбільш повну реалізацію й стабілізацію складових адаптованих екотипів. Після цього включається певної ефективності механізм адаптації у відповідному діапазоні функціональної толерантності, який забезпечує за цих умов остаточне формування адаптованого екотипу.

Будь-який екотип володіє притаманним йому рівнем функціональної толерантності (РФТ), під яким розуміють здатність організму розвивати і реалізовувати закладену адаптивність в визначених гене-

Рівні генетично детермінованої функціональної толерантності (РГД ФТ) ФА) домінанти екотипів		Рівень реалізації успадкованого потенціалу домінанти екотипів Д		
		Жорсткий (фетальний період)		Лабільний (постфетальний період)
		Механізм формоутворювання екотипів		
		Мутаційне формування фаз домінанти		Генно-фенотипове формування рівнів ФТ екотипів ФТ
		І	П	Ш
Основний рівень створення екотипів (норма реакції)	Високий рівень ФТ (ейрисомний тип) - - - Середній рівень ФТ (трансгресивний тип) - - - Низький рівень ФТ (лептосомний тип)			
а	*б*	*в*		*г*

Рис. 1. Формоутворювальний процес домінанти екотипів

тично детермінованих межах толерантності. В рамках основного РГД ФТ формоутворювального процесу (рис.1, *а*) тварини, які володіють слабко вираженою толерантністю, розміщені ближче до нижчого рівня (лептосомний тип); тварини, які володіють високим ступенем толерантності, розміщені ближче до верхнього, потенційно можливого рівня прояву бажаного екотипу (ейрисомний тип); представники трансгресивного типу займають проміжне положення із середнім вираженням рівня функціональної толерантності (рис. 1, *б*).

Розширення амплітуди толерантності в межах, які визначені РФТ певного екотипу, можливе шляхом інтрогресії за допомогою міжтипового схрещування. Механізми процесів, які лежать в основі успадковування по змішаному екотипу, пояснюються адитивною дією генів. Механізми явищ в кожному випадку можуть бути різними [8]. За нашими даними, частка відхилення від середньої, яка передається від батьків потомству і обумовлена адитивною дією генів, може утворювати комбінований рівень функціональної толерантності визначених екотипів, які можна назвати адитивними екотипами.

Структурні параметри екотипів мають свої особливості і специфіку змін в діапазонах жорсткої (фетальний період) і лабільної (постфетальний період) стадій онтогенезу (рис. 1, *д*). Полігон розподілу кількісно виявлених параметрів екотипів підтверджує дане положення і дозволяє вірогідно конкретизувати наявність екотипів.

Згідно концепції, що розглядається, РГД ФТ полягає в тому, що генетична детермінованість толерантності полягає в тому, що представники з високим і низьким ступенем толерантності мають різні межі виявлення екотипу (рис. 1, *б*). Крайніми типами, згідно з цією концепцією, є особини ейрисомного типу, які володіють найбільш високим рівнем ФТ і тварини лептосомного екотипу, які виявляють протилежні якості. Морфоструктура зазначених екотипів формується вже на ранніх етапах постфетального онтогенезу (до 6 міс.), що підтверджується відсутністю суттєвої різниці при повторному визначенні фенотипових параметрів у дорослих тварин і дозволяє у цьому віці розпізнати особини різних екотипів. Найбільш високе співпадання оцінок екотипів (понад 82%) відмічається при проведенні спостережень на тваринах у віці 14—16 місяців: в цей період основні параметри екотипів властиві дорослим тваринам.

Тварини ейрисомного і трансгресивного типів знаходяться в оптимальному (високий і середній) режимах толерантності, в діапазоні більш низького РФТ знаходяться тварини лептосомного екотипу. Єдність РФТ будь-якого діапазону дозволяє припустити, що типологічна різниця проявляється в залежності від активності функціонування генетичного апарату, який цю різницю обумовлює. Наявність середнього рівня толерантності (трансгресивний екотип) дещо зменшує вплив на організм крайніх діапазонів толерантності.

Для молочного скотарства важливе значення має виявлений зв'язок екотипів з продуктивністю корів. В основі цього зв'язку лежить різниця в рівні толерантності, яка забезпечує різний діапазон адаптивності до факторів середовища і, як наслідок, має різну інтенсивність розгортання генетичної інформації в онтогенезі, різну стабільність вегетативних функцій за впливів середовища і неоднакові прояви продуктивності за стресових впливів.

Процес формування домінанти визначених екотипів забезпечує різноманітну систему РГД ФТ з різним ступенем реалізації генетичного потенціалу продуктивності сільськогосподарських тварин. Організми з високим рівнем толерантності генерують інтенсивні процеси розвитку, які забезпечують високу реалізацію генетичного потенціалу максимальної продуктивності. Організм з низьким рівнем толерантності володіє протилежними якостями. Можна констатувати, що екологічні типи є інтегральним вираженням не тільки інтенсивності лактаційної функції, але й функціонування організму в цілому, оскільки в забезпеченні життєдіяльності організму приймають участь практично всі системи та органи.

Теоретичні уявлення свідчать про те, що між особинами різних екотипів немає генетично обумовленої різниці рівня секреторної активності молочної залози [9]. У той же час окремий екотип, визначаючи толерантність організму до зовнішнього впливу, виявляє суттєвий вплив на рівень продуктивності. Тварини будь-якого екотипу, у т. ч. і лептосомного, за особливо сприятливих умов здатні мати високу продуктивність. Однак генетичний потенціал молочності тварини лептосомного екотипу реалізують повільно і менш повно, внаслідок чого продуктивність їх значно нижча, ніж у особин ейрисомного і трансгресивного екотипів. Дане положення підтверджено раніше проведеними дослідженнями [7].

Встановлено, що тварини різних екотипів в процесі адаптації частину енергії повинні витрачати на підтримання нормальних процесів життєдіяльності в рамках рівня толерантності, який обумовлено екотипом, а не на виробництво одиниці продукції. Так, особини ейрисомного і трансгресивного екотипів володіють високим генетично детермінованим рівнем толерантності і забезпечують швидку реалізацію генетичного потенціалу молочності, високу постійність надою за перебігом лактації, менші добові коливання надоїв, більш раціональну оплату корму молоком. В результаті молочна продуктивність корів ейрисомного і трансгресивного типів є вищою в порівнянні з коровами лептосомного екотипу на 9—17%. Ця різниця обумовлена відселекціонованістю породи щодо продуктивності і ступеня толерантності до умов середовища.

Оцінка екотипу, яка дозволяє виявити рівень умовної толерантності тварин до активуючих і гальмуючих впливів середовища, дає можливість прогнозувати ступінь реалізації генетичного потенціалу продук-

тивних якостей ще у ранньому віці [10]. Попередня оцінка перспективної продуктивності і здатності до інтенсивного використання може значно скоротити витрати на низькопродуктивних тварин. Так, в БФК "Нива" Одеської області кількість особин з високим рівнем толерантності (ейрисомний екотип) перевищує 80%. Це, в якійсь мірі, пов'язане з тим, що серед тварин високопродуктивної англерської породи залишали кращих за продуктивністю, чим і здійснювалася селекція за екотипом.

Селекцію і відбір корів бажаних екотипів з високим рівнем толерантності до стимулюючих продуктивність впливів потрібно провадити в умовах крупномасштабної селекції, оскільки механізми підвищення рівня толерантності до верхнього потенційно можливого діапазону, властивого ейрисомному і трансгресивному екотипам, вже достатньо з'ясовані. Можлива часткова перебудова генотипу разом з підвищенням рівня його функціонування, що може бути здійснено в оптимальному діапазоні толерантності організму.

Таким чином, розвиток уявлення про взаємозв'язок екотипів, адаптації і продуктивності висуває цілий ряд нових проблем, які мають теоретичне і прикладне значення, а саме:

1. Залежність становлення в онтогенезі екотипів від рівня генетичної детермінації функціональної толерантності (РГД ФТ) тварин: високий рівень ФТ забезпечує повний прояв задатків (ейрисомний тип), тоді як на фоні низького рівня ФТ ряд біологічних і господарсько корисних ознак, передумови для яких обумовлені генотипово, можуть слабко проявитися (лептосомний тип).
2. Можливість регулювання РГД ФТ організму з метою управління розвитком адаптованих екотипів в межах, які характеризують їх оптимальний стан і які забезпечують оптимальне функціонування органів в онтогенезі. Індивідуальні адаптації накопичуються організмом як реакція на зміну умов в рамках успадковано детермінованої фізіологічної пластичності організму.
3. Найбільший ефект на вираженість успадкованої реалізації екотипу виявляє зміна РГД ФТ організму в окремі (критичні) періоди розвитку. При цьому великого значення набуває розробка нових засобів цілеспрямованого впливу на організм через ФТ з використанням її типологічних особливостей, що дозволяє активізувати процеси життєдіяльності і продуктивності тварин.

З цих фактів випливає важливий висновок про можливість найбільш повної реалізації генетичного потенціалу продуктивності в окремих детермінованих межах, які обумовлені РГД ФТ конкретного екотипу.

Література

1. *Рубан Ю. Д.* Бажані типи і племінне використання молочної худоби. — К.: Урожай, 1987. — 136 с.
2. *Попов Е. Б.* За семью замками наследственности. — М.: Агропромиздат, 1991. — 271 с.
3. *Свечин Ю. К.* Конституция и онтогенез животных // Животноводство. — 1968. — № 7. — С. 40—43.
4. *Колесник Н. Н.* Генетика живой массы скота. — К.: Урожай, 1985. — 184 с.
5. *Иогансон И.* Руководство по разведению животных. — М.: Сельхозиздат, 1963. — Т. 2. — С. 239—247.
6. *Серов О. Л.* Перенос генов в половые и соматические клетки. — Новосибирск: Наука, 1985. — С. 56—78.
7. *Шалімов М.О.* Теоретичні і практичні аспекти формування типів конституції червоних порід худоби: Автореф. дис. ... доктора с.-г. наук. — Харків, 1996. — 39 с.
8. *Шмальгаузен И. И.* Регуляция формообразования в индивидуальном развитии. — М.: Наука, 1964. — 136 с.
9. *Яценко А. Е.* Хозяйственные качества и некоторые морфологические и физиологические особенности крупного рогатого скота в святи с конституцией // Молочно-м'ясне скотарство — 1965. — Вип. 1. — С. 19—32.
10. *Жирмунский А. В., Кузьмин В. И.* Критические уровни в процессах развития биологических систем. — М.: Наука, 1982. — 180 с.

Н. А. Шалимов
Одесская государственная академия холода, кафедра инженерной теплофизики,
ул. Дворянская, 1/3, Одесса, 65026, Украина

НЕКОТОРЫЕ ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ЭКОТИПОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Резюме

Дан анализ генетических особенностей реализации в онтогенезе разных экотипов животных по трём генетически детерминированным уровням толерантности. Обсуждается важность реализации генетического потенциала продуктивности животных в отдельных детерминированных диапазонах адаптивности.

Ключевые слова: адаптация, детерминация, экотип, толерантность.

N. A. Shalimov
The Odessa State Academy of Refrigeration, Department of Thermali Igineering,
1/3, Dvoryanskaya str., 65026, Odessa, Ukraine

SOME ECOLOGY-GENETICAL PROBLEMS OF CATTLE ECOTYPES FORMING

Summary

The analysis of the genetic features of ecotypes realisation in ontogenesis of the cattle in three genetic determinative periods of the tolerance level was carried out. The

importance of creating of realisation of the genetic potential productivity in separate determinative functional adaptation was discussed.

Keywords: adaptation, determination, ecotype, tolerance.

ЗООЛОГІЯ

УДК 595.765

Т. Ф. Крутоголова, ст. викл., **Н. О. Ярошенко**, магістр.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра зоології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна
e-mail: yaroshenko@mail.ru

ЕНТОМОФАУНА ПОЛІВ ЛЮЦЕРНИ НА ПІВДНІ УКРАЇНИ

Вивчено ентомофауну двох полів люцерни, що розташовані в Одеській та Миколаївській областях. Встановлено, що існують відмінності у видовому складі ентомофауни, але в обох випадках комахи поділяються на чотири групи за режимами харчування: антофіли, ентомофаги, поліфаги та фітофаги. При цьому останніх значно більше в обох випадках.
Ключові слова: люцерна, антофіли, ентомофаги, поліфаги, фітофаги.

На Півдні України дуже широко культивуються багаторічні кормові трави, в першу чергу — люцерна (*Medicago sativa* L.). Її висока харчова цінність приваблює велику кількість комах різних режимів харчування. У зв'язку з цим виникає потреба у визначенні видів комах і з'ясуванні, наскільки співпадає видовий склад та кількість груп комах з різними режимами харчування на полях, які розташовані на значній відстані одне від одного.

Метою даної роботи стало вивчення видового складу, а також порівняння груп комах з різними режимами харчування на полях люцерни в Одеській та Миколаївській областях, які відрізняються типом ґрунту, різною кількістю обробок пестицидами та особливостями клімату.

Матеріали та методи

Комах відбирали на полях люцерни третього року вегетації, одне з яких розташоване на землях учгоспу ім. Трофімова в с. Молодіжне Овідіопільського району Одеської області, друге — на землях радгоспу "Степовий" в с. Степове Миколаївського району Миколаївської області.

Обидва поля розташовані в степовій посушливій зоні помірно-континентального кліматичного поясу. Річна кількість опадів складає близько 300 мм на рік в Одеській області та 400 мм — в Миколаївській, переважно у виді злив [1]. Вегетаційний період складає 168—200 діб в Одеській області та 210 діб в Миколаївській. Поля розташовані на південних малогумусових чорноземах в Одеській області та на темно-каштанових в Миколаївській [1, 2].

© Т. Ф. Крутоголова, Н. О. Ярошенко, 2004

На обидва поля вносили органічні добрива тільки під час оранки перед посівом люцерни. Люцерну висівали на полях, що були зайняті паром у минулому році.

З метою запобігання сходам та росту повитиці європейської (*Cuscuta europaea* L.) проводили один раз в рік посіву люцерни обробку гербіцидами: на полі учгоспу ім. Трофімова — 40 %-ним розчином ДНОК, на полі радгоспу "Степовий" — нітрофеном у вигляді 60 %-ної пасти [3].

За даними літератури для захисту від шкідників рекомендується проводити п'ятиразову обробку полів люцерни пестицидами [4]. Обидва господарства для цієї мети використовували пестицид поліхлорпінен у вигляді 65 %-ного концентрату. В учгоспі ім. Трофімова поле обробляли п'ять разів лише в перший рік вегетації люцерни. В радгоспі "Степовий" поле обробляли поліхлорпіненом в перший та другий роки вегетації люцерни — в перший рік проведено п'ять обробок, в другий — три.

Відлов комах здійснювали в період бутонізації та початку цвітіння люцерни ентомологічним сачком за загальноприйнятою методикою [5, 6] у трьохкратній повторності. Однією повторністю вважали кількість комах, відібрану за 50 помахів сачком.

Ідентифікація видового складу комах проведена за визначниками [7, 8]. Розрахунок індексів домінантності та стрівальності проведено за В. М. Беклемішевим [9]; коефіцієнт фауністичної спільності комах досліджуваних двох полів люцерни розраховано за формулою Серенсена [10]. Порівняльна оцінка чисельності комах двох типів полів проведена статистично [11]. Розподіл зареєстрованих видів комах на групи за режимами їх харчування здійснено за В. П. Тищенко [5].

Результати досліджень та їх обговорення

За літературними даними на полях люцерни зустрічається 140 видів комах, особливої шкоди завдають близько 40 видів. Найбільш поширеними серед них є листкові довгоносики, попелиці, клопи, бульбочкові довгоносики [4, 12]. На полі люцерни учгоспу ім. Трофімова (надалі — поле I) виловлено сачком 1028 екземплярів комах, що склало у середньому 6,8±0,21 екземплярів на один помах сачком. Виловлені комахи представлені 12 видами, серед них п'ять виявилися домінантними (> 5 %), п'ять — частими (2,1—5,0 %), два — рідкісними (< 2 %). За частотою стрівальності на цьому полі десять видів виявилися константними (C_f = 75–100 %), два — постійними (C_f = 50—75 %) (табл. 1).

На полі люцерни радгоспу "Степовий" (надалі — поле II) виловлено сачком 513 екземплярів комах, що склало у середньому 3,4 ± 0,02 екземпляри на сачок і це статистично нижче за таке на полі I (коефіцієнт Стьюдента дорівнює 6,89). Тут зареєстровано 11 видів,

серед них сім видів виявилися домінантними, три — частими та один — рідкісним (табл. 1).

Таблиця 1

№ з/п	Вид	Р*	Чисельність, індекс домінування, стрівальність видів					
			Поле I			Поле II		
			Виловлено екземплярів	D_f %	C_f %	Виловлено екземплярів	D_f %	C_f %
1	*Calliptamus italicus* L.	Ph	166	16,2	100	92	17,9	100
2	*Tettigonia viridissima* L.	P	24	2,3	70	20	3,9	70
3	*Oedipoda coerulescens* L.	Ph	-	-	-	62	12,1	100
4	*Mantis religiosa* L.	E	-	-	-	2	0,4	20
5	*Coccinella septempunctata* L.	E	61	5,9	100	57	11,1	100
6	*Phytonomus variabilis* Hrbst.	Ph	231	22,5	100	90	17,6	100
7	*Adelphocoris lineolatus* Goeze.	Ph	35	3,4	90	-	-	-
8	*Acyrthosiphon pisum* Harr.	Ph	280	27,1	100	-	-	-
9	*Aphis craccivora* Koch.	Ph	-	-	-	95	18,5	100
10	*Lasius niger* L.	P	130	12,7	5,1	26	5,1	70
11	*Apis mellifera* L.	A	30	2,9	100	42	8,2	90
12	*Pseudovespa vulgaris* L.	P	10	1,0	50	12	2,3	70
13	*Syrphus ribesii* L.	A	19	1,9	100	15	2,9	80
14	*Eristalis tenax* L.	A	22	2,1	-	-	-	-
15	*Syritta pipiens* L.	A	20	2,0	-	-	-	-
Разом виловлених екземплярів			1028			513		
M ± m, екз. / один помах сачка			6,8 ± 0,21			3,4 ± 0,02		

Примітка: Р* — режим харчування; Ph — фітофаги; А — антофіли; Р — поліфаги; Е — ентомофаги.

Коефіцієнт фауністичної спільності комах двох полів склав 69,6 %, що свідчить про порівняно невисоку їх фауністичну спільність.

Зареєстровані комахи на обох полях були розбиті на групи за режимами харчування. В обох випадках зібрані комахи представлені антофілами, ентомофагами, поліфагами та фітофагами. Проте, незважаючи на однакову кількість груп за режимами харчування, різноманітність видів комах у цих групах та їх кількість на двох полях різна. Так, на полі I до антофілів віднесено чотири види (бджола медоносна — *Apis mellifera* L., дзюрчалка сирф — *Syrphus ribesii* L., дзюрчал-

ка бджоловидна — *Eristalis tenax* L., дзюрчалка сиритта — *Syritta pipiens* L.); до ентомофагів — один (сонечко семикрапкове — *Coccinella septempunctata* L.); до поліфагів — три (коник зелений — *Tettigonia viridissima* L., мурашка садова чорна — *Lasius niger* L., оса звичайна — *Pseudovespa vulgaris* L.); до фітофагів — чотири (прус італійський — *Calliptamus italicus* L., довгоносик люцерновий листовий — *Phytonomus variabilis* Hrbst., клоп люцерновий — *Adelphocoris lineolatus* Goeze., попелиця горохова — *Acyrthosiphon pisum* Harr.) (табл. 1).

На полі II до антофілів віднесено два види комах (бджола медоносна — *Apis mellifera* L., дзюрчалка сирф — *Syrphus ribesii* L.); до ентомофагів — два (сонечко семикрапкове — *Coccinella septempunctata* L., богомол звичайний — *Mantis religiosa* L.); до поліфагів — три (коник зелений — *Tettigonia viridissima* L., мурашка садова чорна — *Lasius niger* L., оса звичайна — *Pseudovespa vulgaris* L.); до фітофагів — чотири (прус італійський — *Calliptamus italicus* L., кобилка блакитнокрила — *Oedipoda coerulescens* L., попелиця люцернова — *Aphis craccivora* Koch.) (табл. 1).

З'ясовано також, що на обох полях люцерни фітофаги склали більшість в порівнянні з іншими групами комах (відповідно 69 % і 66 %). Проте, на полі I ентомофагів зареєстровано у два рази менше, а поліфагів — у 1,4 рази більше за такі на полі II (рис. 1).

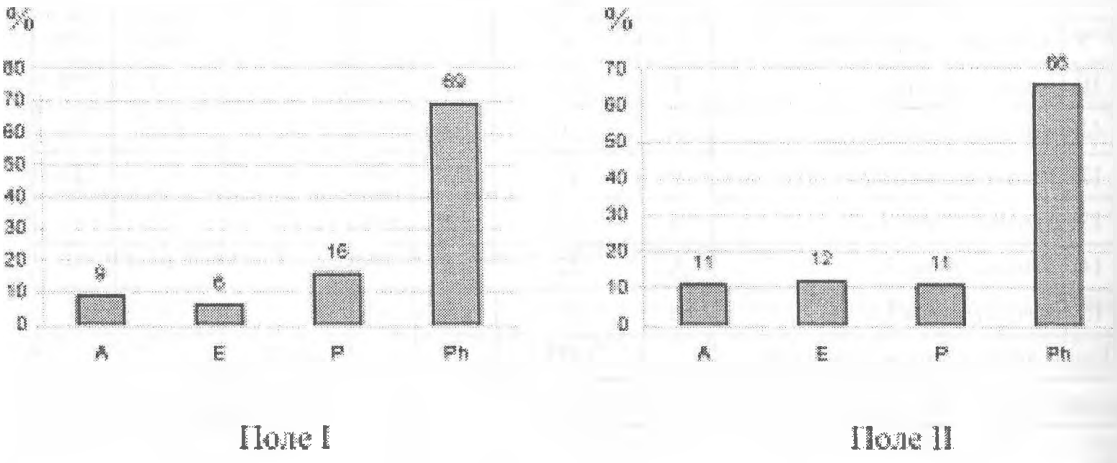


Рис. 1. Співвідношення груп комах з різними харчовими режимами (%) на полях люцерни

Примітка: A — антофіли, E — ентомофаги, P — поліфаги, Ph — фітофаги.

До того ж, серед фітофагів обох полів було виявлено дві групи за способом харчування: гризучі та сисні. Вони мали різний видовий та кількісний склад на кожному полі люцерни (табл. 1).

При цьому на обох полях кількість відловлених сачком сисних фітофагів була вища за таку гризучих: на полі I — в 3,3 рази, на полі II — лише в 1,4 рази (рис. 2).

Так, за даними таблиці 1 на полі I гризучі фітофаги представлені тільки одним видом — *C. italicus* L. загальною кількістю 166 відловлених сачком екземплярів, а на полі II — представлені двома видами: *C. italicus* L. та *O. coerulescens* L. загальною кількістю 154 екземпляри (92 та 62 відповідно). На полі I сисні фітофаги представлені трьома видами: *A. pisum* Harr., *A. lineolatus* Goeze та *Ph. variabilis* Hrbst. загальною чисельністю 546 екземплярів (280, 35, та 231 відповідно). На полі II сисні фітофаги представлені двома видами: Ph. variabilis Hrbst та *A. craccivora* Koch загальною чисельністю 185 екземплярів (90 та 95 відповідно).

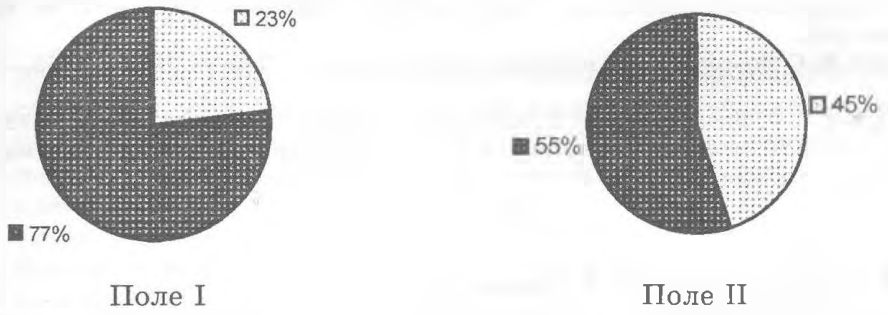


Рис. 2. Співвідношення гризучих та сисних фітофагів на полях люцерни

Примітка: затемнений сектор — сисні фітофаги, світлий сектор — гризучі фітофаги.

Отримані дані свідчать, що видовий склад та чисельність комах-мешканців люцерни в певній мірі залежить від ґрунту, на якому вирощується люцерна, та інших екологічних умов, які притаманні регіону, що досліджується.

Висновки:

1. На полі люцерни I зареєстровано більш вищі показники кількості виловлених сачком комах та різноманітності видів.
2. Досліджені поля люцерни характеризуються порівняно невисокою фауністичною спільністю комах (69,6 %).
3. Фітофаги домінують серед групи комах з іншими харчовими режимами.
4. На полі люцерни I сисних фітофагів виловлено в 3,3 рази більше ніж гризучих фітофагів, на полі II — в 1,4 рази.

Література

1. *Бернандер Н. Б.* Почвы сухостепной зоны // Природа Украинской ССР. Почвы. К.: Наукова думка. — 1986. — С. 120—131.
2. *Бернандер Н. Б., Тютюнник Д. А., Ковалишин Д. И.* Генезис и свойства основных типов почв Украины // Природа Украинской ССР. Почвы. К.: Наукова думка. — 1986. — С. 56—72.

3. *Ершов С. А.* и др. Справочник по защите сельскохозяйственных растений степи Украины. — Одесса: Маяк, 1982. — 210 с.
4. *Ченкин А. Ф.* (под ред.) Справочник агронома по защите растений. — Москва: Россельхозиздат, 1974. — С. 79—81.
5. *Тыщенко В. П.* (под ред.) Руководство но энтомологической практике. — Ленинград: Изд-во Ленинградского университета, 1983. — 230 с.
6. *Фасулати К. К.* Полевое изучение наземных беспозвоночных. — Москва: Высшая школа, 1972. — 423 с.
7. *Мамаев Б. М.* и др. Определитель насекомых европейской части СССР. — Москва: Просвещение, 1976. — 403 с.
8. *Копанева Л. М.* Определитель вредных и полезных насекомых и клещей овощных культур и картофеля в СССР. — Ленинград: Колос, 1982. — 272 с.
9. *Беклемишев В. Н.* Термины и понятия, необходимые при количественном учете популяций эктопаразитов и нидиколов // Зоологический журнал. — 1961. — Т. 40. Вып. 2. — С. 149—158.
10. *Гиляров М. С.* Зоологический метод диагностики почв. — Москва: Наука, 1965. — С. 223—229.
11. *Рокицкий Т. Ф.* Биологическая статистика. — Минск: Вышейшая школа, 1973. — 220 с.
12. *Васильев В. П.* (под ред.) Вредители сельскохозяйственных культур и лесных насаждений. Киев: Урожай, 1987. — 439 с.

Т. Ф. Крутоголова, Н. А. Ярошенко
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра зоологии, ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ЭНТОМОФАУНА ЛЮЦЕРНОВЫХ ПОЛЕЙ ЮГА УКРАИНЫ

Резюме

Изучена энтомофауна двух полей люцерны, расположенных в Одесской и Николаевской областях. Установлено, что существуют отличия видового состава энтомофауны, но в обоих случаях насекомые делятся на четыре группы по режимам питания: антофилы, полифаги, энтомофаги и фитофаги, причем последних значительно больше в обоих случаях.

Ключевые слова: люцерна, антофилы, полифаги, энтомофаги, фитофаги.

T. F. Krutogolova, N. A. Yaroshenko
Odessa National I. I. Mechnikov University, Department of Zoology, Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

ENTOMOFAUNA OF PERENNIAL FODDER GRASS FIELDS OF SOUTHERN UKRAINE

Summary

Entomofauna of two perennial fodder grass fields has been investigated. Difference of species composition has been found both times. Both times four diet groups of insects have been distinguished. Among them numerical superiority belong to phytophagous.

Keywords: perennial grass, anthophils, polyphags, enthomophags, phytophagous.

УДК 599.0-15

В. О. Лобков, канд. біол. наук, завідувач зоологічного музею,
Одеський національний університет, біологічний факультет,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна
e-mail: zoomuz@te.net.ua

ВІДМІННОСТІ ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ КРАПЧАСТИХ ХОВРАШКІВ (*SPERMOPHILUS SUSLICUS GULD.*) У РІЗНИХ ПОСЕЛЕННЯХ

Досліджені сезонні особливості життєдіяльності ховрашків у різних поселеннях. Показано, що розходження в термінах пробудження від сплячки і народження малят обумовлені неоднаковими жировими запасами, що накопичуються ховрашками влітку. Швидкість жиронакопичення найбільш висока в молодих поселеннях, що знаходяться у стадії формування.

Ключові слова: ховрашки, фізіологічний стан, розмноження, жиронакопичення.

Гетерогенність внутрішньопопуляційних угруповань тварин - неодмінна умова підтримки життєздатності популяцій. Гетерогенність популяцій крапчастого ховрашка виявляється на рівні окремих поселень і виражається відмінностями у розмірах особин [1] і плідності самиць [2] у різних, навіть сусідніх поселеннях. Отримані автором факти свідчать і про фізіологічну неоднорідність ховрашків з різних поселень.

Матеріал і методи

Дослідження проводили в Овідіопольському та Комінтернівському районах Одеської області. Ховрашків добували на ділянках природної рослинності і на посівах багаторічних трав (люцерна), де вони утворюють колоніальні поселення, які просторово відокремлені одне від одного і відрізняються часом свого існування. На полях багаторічних трав вони утворюються в рік висіву і протягом наступніх 3—5 років проходять відповідні стадії формування. У природних місцеперебуваннях зазначені поселення розташовуються на тих самих місцях по 10 і більше років. Найменування досліджуваним поселенням ми даємо по назвах найближчих населених пунктів.

Вгодованість особин оцінювали за допомогою коефіцієнта вгодованості — відношенням маси тіла (у г) до його довжини (у см).

Про фізіологічний стан ховрашків у різних поселеннях судили по термінах їх весняного пробудження і розмноження, а також швидкості жиронакопичення.

© В. О. Лобков, 2004

Результати досліджень та їх обговорення

У 1979 р. при одночасному вилові ховрашків у двох поселеннях на багаторічних травах знайшли, що в одному з них народження малят тільки почалося, а в другому вже закінчилося. Відповідно на початку розселення цих ховрашків спостерігали істотні відмінності щодо їх розмірів та маси тіла (табл. 1).

Таблиця 1

Розміри сьогорічних крапчастих ховрашків з двох поселень на люцерні (ховрашків добуто 25 і 26 травня 1979 р.)

Розміри	"Таїрово"		"Велика Долина"		t
	n	M ± m	n	M ± m	
Самці					
Довжина тіла, мм	25	175,1± 1,81	24	165,6 ± 1,55	4,11
Маса тіла, г	25	138,4 ± 5,23	24	109,6 ± 3,39	4,62
Самиці					
Довжина тіла, мм	19	173,2 ± 2,38	21	160,0 ± 2,47	5,0
Маса тіла, г	19	123,2 ± 6,39	21	103,1 ± 4,62	2,54

У наступні роки розходження в термінах розмноження виявляли, порівнюючи розміри (найбільші проміри) ембріонів, що нормально розвивалися. Поселення "Прилиманске" і "Велика Долина" знаходилися в 5 км одне від одного, а "Карпово" розташовувалося на 30 км північніше. Як середні, так і максимальні значення довжини ембріонів, вивчених у ті ж самі терміни, розрізнялися в 1980 р. у всіх поселеннях. У 1981 р. розміри ембріонів досліджували ще в трьох поселеннях. Середня довжина ембріонів у "Сухому Лимані" виявилася меншою, ніж у поселеннях у с. Сичавка, які знаходилися на 20 км північніше. Одночасно ембріони у самиць поселення "Сичавка-1" були крупнішими, ніж у самиць сусіднього поселення "Сичавка-2", розташованого на відстані 500 м (табл. 2).

Відомо, що самиці ховрашків паруються в перші дні і навіть години після виходу з зимівельних нір після сплячки [3; наші дані]. У тих поселеннях, де ховрашки пробуджуються пізніше, відповідно зсуваються терміни розмноження та інших сезонних явищ життєдіяльності. Порівняння розмірів ембріонів в одному і тому ж поселенні, але в різні терміни показує, що добовий приріст у середньому складає 1,6 мм. Виходячи з цього, можна зробити висновок, що в розглянутих поселеннях різниця у віці ембріонів, а, отже, й у термінах пробудження самок складала від двох до восьми діб.

Таблиця 2

Середня довжина ембріонів у самиць, добутих у різних поселеннях

Найменування поселень	Дата вилову	Кількість самиць	Довжина ембріонів, мм	
			min – max	M ± m
"Карпово"	15.04.80 р.	30	2 – 10	5,9 ± 0,5
"Прилиманське"	16.04.80 р.	33	8 – 35	14,3 ± 0,9
"В. Долина"	17.04.80 р.	41	4 – 25	11,2 ± 1,0
"Сухий лиман"	6.04.81 р.	20	3 – 20	11,2 ± 1,5
"Сичавка –1"	7.04.81 р.	28	8 – 35	24,3 ± 1,7
"Сичавка –2"	8.04.81 р.	20	6 – 35	16,1 ± 2,1

Вважають, що час весняної появи ховрашків залежить від конфігурації схилу, на якому розташовуються нори, складу ґрунту і географічної широти місцевості [4, 5, 6]. Усі вивчені нами поселення ховрашків розміщалися на рівних ділянках з однаковим ґрунтовим і рослинним покривом. Різниця в географічній широті місць їхнього розташування була незначною, отже вплив погодних умов був подібним. Можна вважати, що причиною розходжень у термінах пробудження самиць і народження ними малят не є безпосередньо фізичні фактори середовища.

Терміни розмноження гризунів може визначати структура населення. У червонощокого ховрашка (S. erytrogenys Brandt.) парування розтягується за рахунок участі в розмноженні молодих осіб, що пробуджуються пізніше старих [3]. У порівнюваних поселеннях крапчатого ховрашка частка однорічних самиць була подібною (74–88%) і не могла істотно впливати на терміни розмноження. Приблизно однаковим виявилося і співвідношення статей. У розмноженні брали участь усі самиці.

У північно-західному Причорномор'ї навесні першими залишають зимівельні нори і з'являються на поверхні землі найбільш вгодовані особини [7]. Тому в тих поселеннях, де ховрашки влітку накопичили більше жирових запасів, весняне пробудження починається раніше, ніж у тих, де вони виявляються менш вгодованими.

У 1983 р. перші зимівельні нори на обліковій площадці в поселенні "Сичавка-1" відкрилися на тиждень раніше, ніж у "Сичавці-2", а останні зимівельні нори — на 10 днів раніше (рис. 1).

Обидва поселення розташовувалися на люцернових полях у 500 м одне від одного. Проте коефіцієнт вгодованості самців, добутих відразу після пробудження, у "Сичавці-1" склав 10,4 ± 0,38 г/см (n = 42), а в "Сичавці-2" — 8,3 ± 0,43 г/см (n = 22), у самиць відповідно —

8,1 ± 0,21 г/см (n = 22) і 7,1 ± 0,20 г/см (n = 18). У зв'язку з тим що зимова сплячка у сусідніх поселеннях протікала в однакових умовах, відмінності вгодованості ховрашків після пробудження можна пояснити різним ступенем жирових відкладень, накопичених попереднім літом.

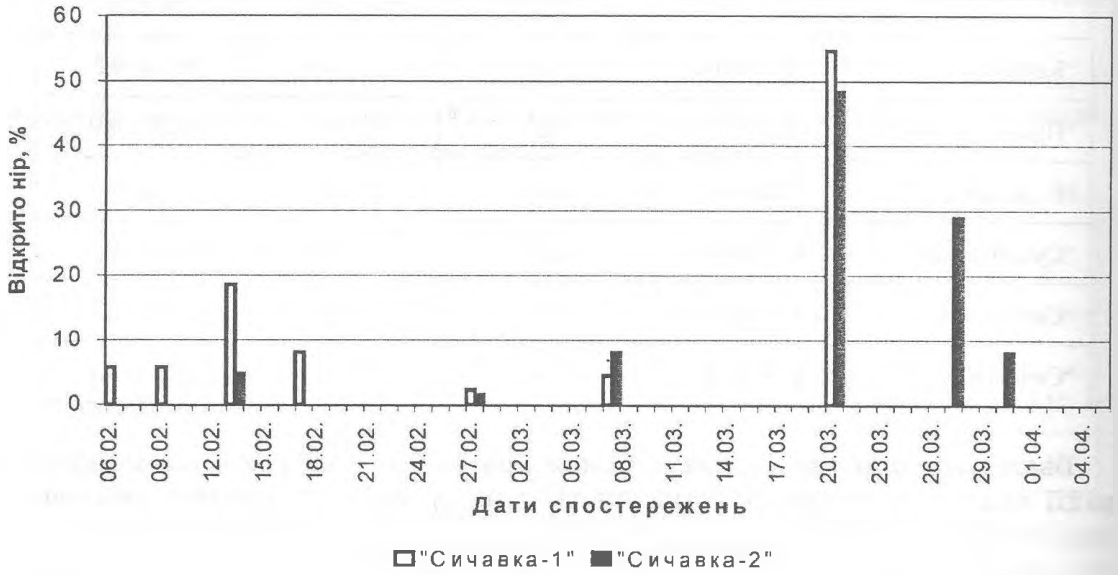


Рис. 1. Терміни пробудження крапчастих ховрашків у поселеннях "Сичавка-1" і "Сичавка-2" на посівах люцерни навесні 1983 р.

Поселення розрізнялися термінами утворення. Поселення "Сичавка-1" почало заселятися ховрашками у 1981 р., а "Сичавка-2" сформувалося на 3 роки раніше. Найбільш високу швидкість жиронакопичення ми спостерігали у молодих поселеннях навіть у тому випадку, якщо вони були розташовані в однакових біотопах (люцернові поля). Прикладом слугують поселення "Сичавка-2" і "Велика Долина". Через запізнювання термінів народження малят у 1982 р. фізіологічний вік особин в обох поселеннях під час виловів був однаковим, але добовий приріст коефіцієнта вгодованості самців з "Великої Долини" виявився в 1,5 рази вищим, ніж із "Сичавки-2" (табл. 3). При цьому слід зауважити, що поселення "Сичавка-2" знаходилося на четвертому році свого розвитку, а "Велика Долина" почало розиватися лише два роки тому.

Час, що пройшов з початку заселення полів гризунами (вік поселень) здається нам основною причиною фізіологічних відмінностей у ховрашків, що визначають успішність підготовки цих тварин до зимівлі. У недавно утворених просторових угрупованнях на посівах багаторічних трав особини, які тут народилися, відрізняються не тільки великими розмірами і підвищеною плідністю, але і швидкістю накопичення жирових запасів і ступенем максимальної вгодованості перед заляганням у сплячку. Улітку найбільш вгодовані ховрашки зустрічаються лише в перші роки після заселення посівів люцерни.

Таблиця 3

Швидкість збільшення вгодованості сьогорічних самців крапчастого ховрашка в деяких поселеннях на полях люцерни

Найменування поселень	Дати вилову	Кількість, экз.	Коефіцієнт вгодованості, г/см	Добовий приріст, г/см
"Сичавка –2"	4.07.82 р. 1.08.82 р.	11 9	9,2 ± 0,71 10,0 ± 0,68	- 0,030
"Велика Долина"	23.06.85 р. 28.07.85 р.	14 13	9,5 ± 0,80 11,1 ± 0,65	- 0,045

Розходження у швидкості жиронакопичення відбивають особливості фізіологічного стану тварин у різнорічних поселеннях. Ця швидкість найбільш висока в недавно утворених угрупованнях, де спостерігаються великі розміри осіб і підвищена плідність самиць перших, народжених тут, поколінь. Такі молоді просторові угруповання ховрашків мають більше шансів для виживання за ранніх літніх посух, погіршення кормової бази, а також у періоди аномальних промерзань ґрунтів. Природні й антропогенні чинники, що ведуть до перегрупувань населення і масового утворення молодих поселень, сприяють збереженню виду і збільшенню його чисельності.

Література

1. *Лобков В. А.* О хронографической изменчивости крапчатого суслика (Citellus suslicus) // Зоол. журн. — 1978. — Т. 57, вып. 12. — С. 1897—1899.
2. *Лобков В. А.* О размножении крапчатого суслика (Citellus suslicus Guld.) в антропогенном ландшафте северо-западного Причерноморья // Экология. — 1983. — № 2. — С. 44—49.
3. *Кавешникова Н. А.* Микроморфологические исследования полового цикла самок краснощекого суслика в Западной Сибири. Автореф. дисс. ...канд. биол. наук. — Томск, 1974. — 21 с.
4. *Шейкина М. В.* Ход пробуждения от зимней спячки сусликов разного возраста и пола // Грызуны и борьба с ними. — Саратов: Саратовское книжное изд-во, 1955. — Вып. 4. — С. 20—27.
5. *Сокур І. Т.* Шкідливі гризуни і боротьба з ними. — К.: Вид-во АН УРСР, 1963. — 95 с.
6. *Иванов И. В.* Малый суслик Северного Кавказа // Фауна, экология и охрана животных Северного Кавказа. — Нальчик, 1976. — Вып. 3. — С. 36—88.
7. *Лобков В. А.* Особенности сезонных явлений жизни крапчатого суслика (Citellus suslicus Guld.) в северо-западном Причерноморье и их экологические последствия // Научные труды Зоологического музея ОГУ. Матер. по изучению животного мира. — Одесса, 1995. — Т. 2. — С. 32—49.

В. А. Лобков
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
зоологический музей,
ул.Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

РАЗЛИЧИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ КРАПЧАТЫХ СУСЛИКОВ (SPERMOPHILUS SUSLICUS GULD.) В РАЗНЫХ ПОСЕЛЕНИЯХ

Резюме

Исследованы особенности отдельных сезонных явлений жизнедеятельности сусликов в разных поселениях. Показано, что расхождения в сроках весеннего пробуждения от спячки и рождение молодняка обусловлены неодинаковыми жировыми запасами, накапливаемыми сусликами летом. Скорость жиронакопления наиболее высока в молодых поселениях, находящихся в стадии формирования.

Ключевые слова: суслики, физиологическое состояние, размножение, жиронакопление.

V. A. Lobkov
Odessa I. I. Mechnikov National University,
zoological museum
Dvoryanskaya, 2, Odessa, 63026, Ukraine

DIVERSITIES IN PHISIOLOGICAL CONDITION OF SPOTTED SOUSLIKS (SPERMOPHILUS SUSLICUS GULD.) IN DIFFERENT SETTLEMENTS

Summary

Peculiarities of the seasonal phenomens in the life in different settlements of spotted souslik was researched. Distinctions in the term of spring emergence and reproduction is stipulate differents fat resource is accumulate by individuals in summer. Sousliks is fatten speedly in the young forming settlements.

Keywords: sousliks, physiological condition, reproduction, fat resourse accumulation.

УДК 591.444:599.322.2

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

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ САМЦОВ КРАПЧАТОГО СУСЛИКА (*SPERMOPHILUS SUSLICUS* GULD.)

Установлено, что сезонные изменения структуры щитовидной железы тесно связаны с процессами жизнедеятельности (спячкой, размножением, линькой). Динамика изменений морфометрических параметров железы свидетельствует об увеличении активности органа с момента пробуждения к концу 2-го месяца периода активности. У самцов крапчатого суслика в этот период наблюдается интенсификация процесса линьки, начинается строительство зимних нор.

Ключевые слова: щитовидная железа, крапчатый суслик, сезонность.

Большинство авторов, подчеркивая своеобразие сезонных изменений щитовидной железы зимоспящих, отмечают максимальный уровень активности органа в период активности и минимальный — во время зимней спячки. Вместе с тем одни авторы указывают на максимум функции к моменту пробуждения (краснощекий и тринадцатиполосный суслик) [1, 2], другие — в первые дни после пробуждения (желтый суслик) [3], третьи — фиксировали наибольшую высоту тиреоидного эпителия спустя 1,5—2 месяца после пробуждения (суслик Ричардсона) [4]. Некоторые исследователи регистрировали морфологические признаки, свидетельствующие о максимуме функции щитовидной железы, в период зимней спячки [5].

Разноречивость данных о сезонных изменениях щитовидной железы связана, по-видимому, не только с различными методиками или продолжительностью исследования, но и "... изучением отдельных видов без учета популяционных, экологических и физиологических особенностей" [6]. Для зимоспящих весна, например, включает период пробуждения, гона, беременности и лактации, жиронакопления и линьки. Поэтому констатация факта о максимальной активности железы весной ограничивает наши представления о сезонной динамике деятельности этого органа у зимоспящих млекопитающих. Отсутствие сведений о структурных изменениях щитовидной железы на разных этапах годового цикла жизнедеятельности зимоспящих и определило цель данной работы — исследовать сезонную динамику морфофизио-

© Ю. Н. Олейник, 2004

логических показателей активности щитовидной железы крапчатого суслика.

Материал и методы исследования

Гистологическому исследованию подвергнуты щитовидные железы от 166 годовалых самцов крапчатых сусликов. Щитовидные железы фиксировали в жидкости Буэна. Проводку всех образцов осуществляли по стандартной схеме. Исследованы морфометрические параметры, отражающие состояние тканевого уровня организации щитовидной железы и наиболее важные с точки зрения экологической гистологии: больший (F) и меньший диаметры фолликула, число тироцитов (n) и резорбционных вакуолей (N) в фолликуле, высоту тироцитов (H), больший и меньший диаметры ядра тироцита. На основании указанных морфометрических показателей вычисляли значения производных параметров: эксцентриситета фолликулов и эксцентриситета ядер тироцитов [7].

При формировании исследуемых групп и определении влияния возраста на морфометрические параметры железы использовали F-критерий Фишера [8].

Результаты и анализ результатов

Переход от активного состояния к спячке у сусликов происходит постепенно. Суслики в этот период реже появляются на поверхности и могут сутками отсиживаться в норах [9]. В гнезде периоды активности сменяются состоянием оцепенения, продолжительность которого постепенно увеличивается.

В период спячки дольчатость органа остается хорошо заметной. Фолликулы преимущественно вытянутой и овальной формы. Четкого проявления зональности в щитовидной железе крапчатого суслика в данной фазе его годового цикла не наблюдается. Функциональная активность щитовидной железы в период спячки уменьшается с наступлением длительных периодов оцепенения. Минимальные значения морфометрических показателей активности железы приходятся на 2-ой месяц гипобиоза. Сохранение относительно высокой функциональной активности железы в этот период приводит к истощению и гибели сусликов еще до завершения спячки [10]. С 12-ой недели спячки происходит увеличение морфофизиологических показателей активности щитовидной железы.

Не подвергая сомнению взаимосвязь структурных изменений щитовидной железы с уровнем функциональной активности данного органа, одни авторы, тем не менее, считают эти изменения наибольшими в период пробуждения [6], тогда как другие находят структурные перестройки (гетероморфность фолликулов, высота эпителия, степень развития аппарата Гольджи, шероховатого ЭПР) недостаточными для развития максимальной активности органа [11]. Эти внешне противо-

речивые утверждения согласуются между собой, если учесть, что в первые дни после пробуждения суслики ведут малоподвижный образ жизни: от зимовочных нор далеко не отходят, на поверхности проводят мало времени. Похолодание, выпадение снега, неблагоприятные кормовые условия способствуют залеганию зверьков во вторичную спячку. Возможность возвращения сусликов в состояние спячки как раз и определяется сравнительно невысоким по сравнению с весенне-летним периодом жизнедеятельности уровнем активности щитовидной железы (установлено уменьшение высоты тироцитов, числа резорбционных вакуолей, а также сохранение минимальной величины изменчивости структурных элементов, характерной для периода зимней спячки). С другой стороны, отсутствие форсированного термогенеза приводит к продолжению зимней спячки у отдельных особей до апреля — мая [9].

В период пробуждения в структуре железы четко проявляется зональность в распределении фолликулов разных размеров. В периферической зоне располагаются преимущественно крупные фолликулы, больший диаметр которых достигает 135 мкм. Мелкие и среднего размера фолликулы чаще собраны в группы, локализующиеся в центральной части органа. Иногда отмечается 2—3 подобные группы. Размеры фолликулов по сравнению с предшествующим периодом спячки возрастают на 22,3 %. Увеличивается вариабельность большего и меньшего диаметра фолликулов. Отмечаются случаи слияния фолликулов. Чаще наблюдаются фолликулы овальной, реже вытянутой или неправильной формы. Расчитанный объем фолликулов составляет 265377 мкм^3.

Тироциты кубической или уплощенной формы. Последние встречаются преимущественно в крупных фолликулах. Высота тироцитов уменьшается (с 8,2 ± 1,0 мкм до 6.8 ± 1.1 мкм) (табл. 1), что, возможно, приводит к некоторому уменьшению синтетической функции железы. Не исключено, что это может быть связано с предшествующей мобилизацией всех механизмов теплообразования, обеспечивающих быстрое повышение температуры тела спящего суслика до величин, характерных для бодрствующего животного [12]. В щитовидной железе крапчатого суслика нами отмечены как значительные количества бурой жировой ткани, тесно прилегающей к капсуле железы, так и отдельные клетки в паренхиме данного органа, обеспечивающие включение форсированного термогенеза во время срочного разогрева суслика при выходе из спячки [13].

Коллоид присутствует во всех фолликулах. В крупных фолликулах коллоид имеет слоистый вид, а в мелких и средних — плотный, без признаков слоистости. Число резорбционных вакуолей мало, но все же выше, чем в период спячки, свидетельствуя об увеличении выхода секрета железы. Между фолликулами располагаются отдельные клетки бурой и белой жировой ткани.

Таблица 1

Сезонные изменения морфометрических показателей активности щитовидной железы самцов крапчатого суслика

Время (нед.)	n (экз)	H (мкм)		F (мкм)		N		n	
		$X \pm S_x$	δ	$X \pm S_x$	δ	$X \pm S_x$	δ	$X \pm S_x$	δ
Активный период									
1	20	7.2 ± 0.25	1.1	89.7 ± 3.8	16.9	8.3 ± 0.9	3.9	20.9 ± 0.7	3.3
3	35	7.9 ± 0.27	1.6	86.8 ± 3.2	19.0	5.6 ± 0.7	4.2	22.0 ± 0.9	5.0
5	69	8.5 ± 0.16	1.3	87.8 ± 1.7	13.8	6.5 ± 0.4	3.4	22.0 ± 0.6	4.6
7	18	9.6 ± 0.27	1.1	91.2 ± 4.3	18.4	7.9 ± 0.7	3.1	22.0 ± 1.3	5.3
13	11	6.5 ± 0.26	0.8	84.5 ± 4.9	16.3	9.8 ± 1.1	3.6	20.5 ± 1.4	4.6
Спячка									
1,5	4	7.5 ± 0.5	0.2	52.0 ± 5.2	0.3	3.0 ± 2.3	2.3	-	-
4	4	6.2 ± 0.8	0.4	96.0 ± 14.3	0.4	-	-	-	-
8	4	4.8 ± 0.3	0.2	83.6 ± 5.1	0.2	-	-	-	-
12	4	8.2 ± 1.0	0.3	85.5 ± 8.0	0.4	5.8 ± 2.8	1.2	-	-
Вторичное залегание	4	6.9 ± 0.2	0.1	76.0 ± 4.6	0.02	4.8 ± 1.2	0.7	-	-

С окончанием периода пробуждения и началом периода гона (3–4 недели после пробуждения) продолжает регистрироваться зональность в железе. Размеры и форма фолликулов существенно не изменяется (табл. 1). Тироциты большей частью приобретают кубическую форму. В результате увеличивается и высота тироцитов (на 10 %). Уплощенные клетки локализуются преимущественно в крупных фолликулах, расположенных на периферии железы.

Коллоид в крупных фолликулах периферической зоны продолжает оставаться слоистым. В мелких и средних фолликулах он приобретает характер "размытого" коллоида. Между фолликулами разбросаны

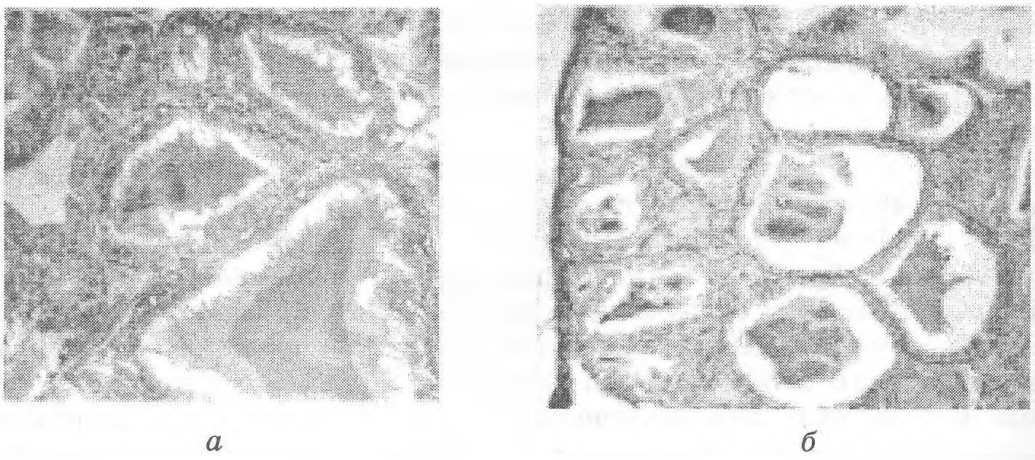
многочисленные островки межфолликулярного эпителия. В железе местами сохраняются крупные островки белой жировой ткани. Значительные скопления белой жировой ткани располагаются около железы.

Через 5 недель после пробуждения (период завершения гона и начала линьки) зональность и дольчатость выражены особенно четко. В периферической зоне отмечаются отдельные огромные (135 мкм) фолликулы. Возрастает число фолликулов неправильной формы. Размеры фолликулов существенно не изменяются. Тироциты становятся кубическими и высококубическими. Высота тироцитов увеличивается до 8.5 ± 0.16 мкм (табл. 1). Слоистый коллоид сохраняется в крупных фолликулах периферической зоны. В фолликулах центральной зоны наблюдается уплотнение коллоида; он занимает всю полость фолликулов. Вакуолизация коллоида очень неравномерна в разных фолликулах, хотя в целом число резорбционных вакуолей по сравнению с предыдущим периодом существенно не увеличивается (табл. 1).

С усилением процесса линьки и интенсивности роста массы тела (7—8 недель после пробуждения) характерной для железы половозрелых животных зональности не наблюдается. Размеры фолликулов (т. е. больший и меньший диаметр фолликулов) существенно не увеличиваются. Однако возрастает вариабельность формы фолликулов: от овальных до щелевидных с почти отсутствующей внутренней полостью. Изменчивость формы тироцитов увеличивается: отмечаются тироциты различной формы от уплощенной до призматической. Как правило, в количественном отношении преобладают тироциты призматической формы. Высота тироцитов достигает максимальных величин — 9.6 ± 0.27 мкм ($P<0,05$) (табл. 1). Плотность коллоида уменьшается. Наблюдается увеличение выведения коллоида из фолликулов, о чем свидетельствует увеличение числа резорбционных вакуолей (табл. 1; рис. 1).

В период подготовки к спячке (13—14 недель после пробуждения) вновь регистрируется зональность и дольчатость железы. Крупные фолликулы располагаются в периферической зоне. В центральной зоне локализуются мелкие фолликулы. В целом структуру железы можно охарактеризовать как мелкофолликулярную (табл. 1). Объем фолликулов меньше, чем в период пробуждения.

Тироциты, наряду с кубической, все чаще приобретают уплощенную форму (рис. 1). В первую очередь уплощенные тироциты отмечаются в крупных фолликулах на периферии. Высота эпителиальных клеток уменьшается почти в 1,5 раза (табл. 1). Коллоид уплотняется, а в крупных фолликулах он приобретает слоистость, свидетельствующую об уменьшении выведения секрета из фолликулов. Однако число резорбционных вакуолей еще достаточно велико (табл. 1). В периферической зоне железы располагаются многочисленные включения бурой и белой жировой ткани.



а *б*

Рис. 1. Щитовидная железа половозрелого самца крапчатого суслика.
а — Высокий эпителий, интенсивная резорбция (7 недель после пробуждения).
б — Плоский эпителий, резорбция выражена незначительно (13 недель после пробуждения). Окр. по Слинченко. Ув. х 40.

В результате качественной визуальной оценки и анализа морфометрических параметров щитовидной железы установлено, что сезонные изменения структуры щитовидной железы тесно связаны с процессами жизнедеятельности (спячкой, размножением, линькой). Динамика морфометрических параметров железы свидетельствует об увеличении активности органа с момента пробуждения животного к концу 2-го месяца периода активности, когда у самцов крапчатого суслика наблюдается интенсификация процесса линьки, начинается строительство зимних нор. Повышенные энергозатраты в этот период прежде всего связаны с деятельностью щитовидной железы. Затраты энергии у сусликов в данный период не только не ниже, чем в период гона, но и выше [15, 16]. Так, если весной доля энергозатрат на двигательную активность составляет 53%, то в период активного строительства нор она достигает 64%. Благодаря увеличению активности щитовидной железы становится возможным и усиление процесса линьки. Установлено, что низкий уровень гормонов, продуцируемых щитовидной железой, тормозит процесс линьки [14]. Наблюдения за крапчатыми сусликами в неволе показали, что по мере затухания процесса размножения масса тела увеличивается [17]. Не исключено, что увеличение на этом этапе жизнедеятельности массы тела у самцов крапчатого суслика связано не только с накоплением жира, но и изменением скелетно-мышечной системы [18]. В этот период отмечается некоторое увеличение длины тела как у самцов, так и у самок. Таким образом, наблюдаемая высокая активность железы может быть связана с ростовыми процессами и не вступает в противоречие с известными фактами торможения функции щитовидной железы при увеличении массы тела за счет жировых отложений [19].

К концу 2-го месяца с начала пробуждения сусликов отмечаются первые признаки морфофункционального истощения железы: увеличе-

ние гетероморфности фолликулов (от овальных до щелевидных), появление уплощенных тироцитов. Происходит нарастание вакуолизации коллоида, вплоть до полного его исчезновения из полости фолликулов. Спустя 3,5 месяца после пробуждения показатели активности железы не отличаются от аналогичных параметров в период пробуждения.

Выводы

1. Динамика морфометрических параметров щитовидной железы бодрствующих самцов крапчатого суслика свидетельствует о достижении данным органом максимума своей функции к 7—8-ой неделе периода активности сусликов. В этот период наблюдается активизация процессов роста шерстного покрова (линька), увеличения массы тела у самцов крапчатого суслика, отмечается усиление роющей деятельности.
2. Минимальные значения морфометрических показателей активности железы приходятся на 2-ой месяц гипобиоза.

Литература

1. *Михневич О. Ч., Костырев О. А.* Сезонные изменения морфологии щитовидной железы у краснощекого суслика // Зимняя спячка и сезон. ритмы физиол. функц. — Новосибирск, Наука, 1971. — С. 33—42.
2. *Hoffman R., Zarrow M. A.* A comparison of seasonal changes and the eggect of cold on the thyroid gland of the male rate and ground squirrel // Acta endocrinol. — 1958. — V. 227. — P. 77—84.
3. *Ахметов И. З., Хайрутдинов Х. Ш.* Спячка животных и функция щитовидной железы // Ж. общ. биол. — 1975. — Т. 36, № 6. — С. 942—949.
4. *Winston B. W., Henderson N. E.* Seasonal changes in morphology of the thyroid gland of a hibernator, Spermophilus richardsoni // Can. J. Zool. — 1981. — V. 258, № 6. — P. 1022—1031.
5. *Вольфензон Л. Г., Ипатьева Н. В.* Взаимосвязь циклических изменений функции щитовидной железы и холодоустойчивости in vitro у зимоспящих // Экология. — 1975. — № 3. — С. 51—59.
6. *Ахметов И. З.* Эколого-физиологические особенности щитовидной железы грызунов. — Ташкент: ФАН, 1978. — 136 с.
7. *Гербильский Л. В.* Внутриорганная интеграция щитовидной железы: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. — М., 1987. — 35 с.
8. *Лакин Г. Ф.* Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
9. *Лобков В. А.* Крапчатый суслик северо-западного Причерноморья: биология, функционирование популяций. — Одесса: Астропринт, 1999. — 272 с.
10. *Олейник Ю. Н.* Структурные изменения щитовидной железы крапчатого суслика в период зимней спячки // Материалы V съезда Всес.териол. о-ва (29 января — 2 февраля 1990 г., Москва): Тез. докл., ч. 2. — М., 1990. — С. 210—211.
11. *Demeneix B. A., Lachiver F., Henderson N. E.* Thyroidal iodine and thyroglobulin in hibernating and active Richardson's ground squirrels Spermophilus richardsoni // Comp. Biochem. and Physiol. — 1983. — A75, № 5. — P. 273—284.
12. *Тарасов В. Ф., Гальченко С. Е., Степанов И. О.* Динамика теплообразования в организме сусликов при пробуждении от зимней спячки // Криобиология. — 1988. — № 2. — С. 22—24.
13. *Хочачка П., Сомеро Дж.* Стратегия биохимической адаптации. — М.: Мир, 1977. — 398 с.

14. *Johnson E.* Seasonal adaptive coat changes in mammals // Acta Zool. Fennica. — 1984. — V. 2171. — P. 7—12.
15. *Бескровный М. А.* Влияние температуры и освещенности на крапчатого суслика Citellus suslicus Guld. // Экология. — 1976. — № 2. — С. 55—62.
16. *Пастухов Ю. Ф., Невретдинова З. Г., Словиков Б. И.* Годовой бюджет активности и энергозатрат у зимоспящих млекопитающих // Докл. АН СССР. — 1989. — Т. 305, № 5. — С. 1270—1273.
17. *Лобков В. А., Олейник Ю. Н.* Сезонная динамика веса тела и структурные изменения щитовидной железы у самцов крапчатого суслика // Материалы V съезда Всес. териол. о-ва (29 января — 2 февраля 1990 г., Москва): Тез. докл., ч. 2. — М., 1990. — С. 22—23.
18. *Клевезаль Г. А.* Возрастные особенности сезонного ритма роста скелета длиннохвостого суслика (Citellus undułatus) // Зоол. ж. — 1978. — Т. 57, Вып. 6. — С. 917—923.
19. *Ахметов И. З.* Эколого-физиологические особенности функций щитовидной железы и ее взаимосвязь с весом тела у грызунов // Экология — 1979. — № 6. — С. 73—81.

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

СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ І СЕЗОННІ ЗМІНИ ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ САМЦІВ КРАПЧАСТОГО ХОВРАХА (SPERMOPHILUS SUSLICUS GULD.)

Резюме

Установлено, що сезонні зміни структури щитовидної залози тісно пов'язані з процесами життєдіяльності (спячкою, розмноженням, линянням). Динаміка змін морфометричних параметрів залози свідчить про збільшення активності органа з моменту пробудження до кінця 2-го місяця періоду активності тварин, коли в самців крапчастого ховраха спостерігається інтенсифікація процесу линьки, починається будівництво зимових нір.

Ключові слова: щитовидна залоза, крапчастый ховрах, сезонні зміни

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

STRUCTURAL ORGANIZATION AND SEASONAL CHANGES OF THE THYROID GLAND OF THE MALE SPOTTED SOUSLIK (SPERMOPHILUS SUSLICUS GULD.)

Summary

It is established that the seasonal changes of the thyroid gland structure are closely connected with the processes of ability to live (hibernation, reproduction, shed). The dynamical changes of morphometric parameters of the gland testify to increasing of activity of a body from the moment of awakening to the end of 2 month period of activity, when the intensification of the shedding process is observed for a male spotted souslik, the construction of winter holes begins.

Keywords: thyroid gland, spotted souslik, seasonal changes.

УДК 591.524

И. Т. Русев [1], канд. биол. наук, зав. лаб. экологии, **А. И. Корзюков** [2], канд. биол. наук, доц., **И. П. Гержик** [3], науч. сотр.

[1] Украинский научно-исследовательский противочумный институт им. И. И. Мечникова,
65026, Одесса, ул. Церковная, 4, Украина, e-mail: wildlife@paco.net

[2] Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра зоологии,
65058, Одесса, Шампанский пер., 2, Украина, e-mail: oleg@te.net.ua

[3] Азово-Черноморский орнитологический союз,
65058, Одесса, Шампанский пер., 2, биофак, Украина, e-mail: gerjik@te.net.ua

ВЛИЯНИЕ АНОМАЛЬНОЙ ЗИМЫ 2002-2003 ГГ. НА ВИДОВОЙ СОСТАВ И ЧИСЛЕННОСТЬ ЗИМУЮЩИХ ПТИЦ В ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЕ ОДЕССКОЙ ОБЛАСТИ

В результате мониторинга зимующих птиц в прибрежной зоне Черного моря было установлено, что аномальная зима 2002—2003 года резко повлияла на численность зимующих птиц. Доминировали на зимовках утки, составляя 83,9%, хотя численность их была в два раза ниже, чем аналогичный показатель обычных зим. Численность гусей упала более чем в 15 раз, что связано с крайне бедной кормовой базой. Основными рефугиумами для зимующих птиц были Сухой и Григорьевский лиманы и прилегающая к ним акватория Черного моря.

Ключевые слова: птицы, водно-болотные угодья, численность и видовой состав зимующих птиц.

Труднейшим сезоном года для птиц является период зимы. От того, насколько будет успешна зимовка, зависит продуктивность популяций многих видов в репродуктивный период. Причерноморская зона Одесской области считается одним из благоприятных регионов зимовки. Однако, бывают зимы, как, например, зима 2002—2003 гг., резко отличающиеся от типичных мягких и благоприятных зим Причерноморья, что вполне естественно сказывается на видовом составе, пространственном распределении и численности зимующих птиц.

Целью настоящей работы является выявление особенностей видового состава и численности птиц в период аномальной зимы 2002—2003 гг.

Материалы и методы

Наблюдения по размещению и учету численности птиц были проведены в период с 15 по 25 января 2003 г. Информация о видовом составе и пребывании зимующих птиц в регионе собирали в период с

© И. Т. Русев, А. И. Корзюков, И. П. Гержик, 2004

1 декабря 2002 г. по 30 января 2003 г. Сроки учетов соответствовали аналогичному периоду наблюдений в предшествующих годах 1995—2001 [1—5]. Такой учет по устоявшейся уже традиции мы называем Рождественским.

Основным методом мониторинга зимующих птиц в этом сезоне были наблюдения за их скоплениями на ключевых водоемах прибрежной зоны Одесской области и прилегающих к ним территориях и акваториях Черного моря (рис. 1). Общая протяженность автомобильных и пеших маршрутов составила около 1300 км.

Орнитологические наблюдения включали в себя: сбор полевой информации о видовом составе и численности птиц, их суточных перемещениях, сбор информации о ледовой обстановке на водоемах, снежном покрове на полях и о состоянии кормовой базы для гусей (озимые пшеница и ячмень) и хищных птиц — миофагов (состояние зимующих популяций обыкновенной полевки — *Microtus arvalis* и курганчиковой мыши — *Mus spicilegus*).

Первичные материалы собраны профессиональными орнитологами, имеющими многолетний опыт полевой работы по мониторингу зимующих птиц. В отдельных случаях были использованы материалы орнитологов-любителей, охотников и рыбаков.

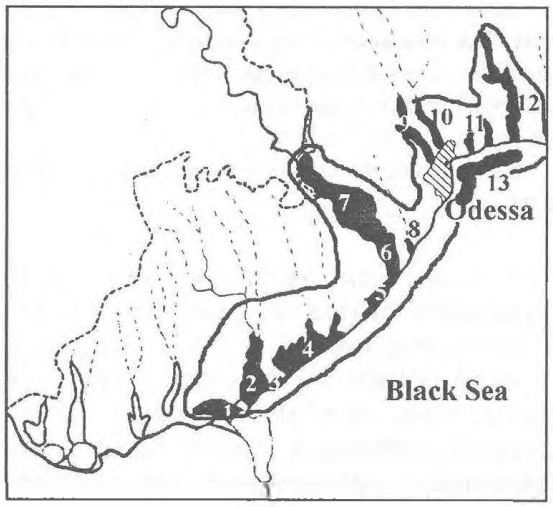


Рис. 1. Районы мониторинга зимующих птиц: 1 — Стенцовско-Жебрияновские плавни; 2 — озеро Сасык; 3 — Джанашейский лиман; 4 — Тузловские лиманы; 5 — Будакский лиман; 6 — Днестровский лиман; 7 — дельта Днестра; 8 — Сухой лиман; 9 — Хаджибейский лиман; 10 — Куяльницкий лиман; 11 — Дофиновский и Григорьевский лиманы; 12 — Тилигульский лиман; 13 — акватория Одесского залива

Всего за период мониторинга зимующих птиц было выявлено 105 видов; их общее количество, выявленное в период с 15 по 25 января 2003 г., составило 80813 особей.

Результаты и их обсуждение

Одним из главнейших лимитирующих факторов для птиц является доступность корма. Однако, в зимний период главнейшим препятствием для наземно кормящихся птиц является снег, а для птиц, кормящихся на водоемах, — лед.

Зима 2002–2003 гг. отличалась от предыдущих рядом особенностей:

— Похолодание и заморозки начались в первой половине декабря и закончились в марте 2003 г., с дополнительным выпадением снега 6, 7 и 8 апреля;

— Отмечались непрерывные минусовые температуры; их максимум в декабре составлял 16,3 °С, а в январе — 17,6 °С (рис. 2);

— На фоне постоянной минусовой температуры в декабре отсутствовал снег, а в январе отмечались обильные снегопады.

Такие особенности зимы привели к тому, что все пресноводные и соленые водоемы, а также прибрежная зона Черного моря на протяжении длительного времени были скованы льдом и послужили причиной того, что из 722,1 тысячи гектаров озимых зерновых в Одесской области более 60% посевов погибло. Сохранившиеся посевы в результате обильных снегопадов стали недоступными для зимующих гусей, куропаток и других птиц.

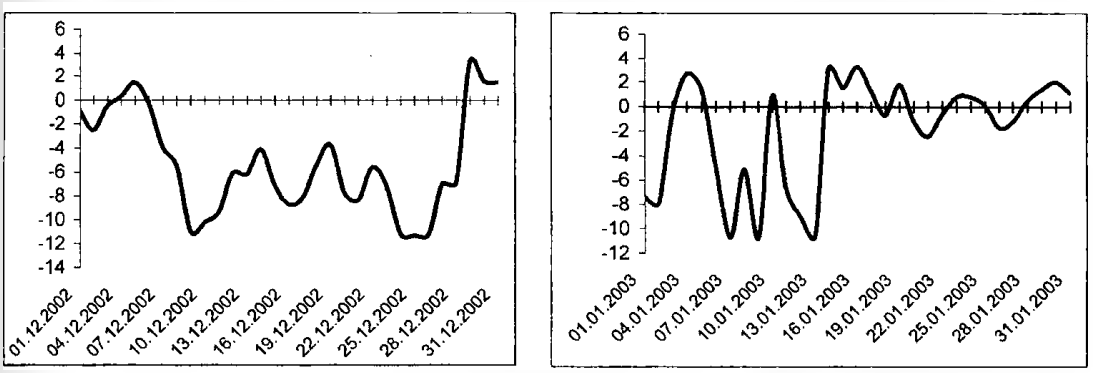


Рис. 2. Погодные условия декабря 2002 и января 2003 гг.

Такие необычные погодные условия определили характер зимовки 2002—2003 гг. Всего нами было зарегистрировано 105 видов птиц (таблица), что соответствует среднему многолетнему показателю числа зимующих видов, однако общая их численность составила всего 80813 особей, что в два раза ниже показателя числа зимующих птиц в этом регионе в предыдущие годы.

Среди водоемов по значительному количеству птиц резко выделялись Григорьевский и Сухой лиманы и акватория Черного моря, прилегающая к ним, где было зарегистрировано более 50% от всех учтенных птиц в Одесской области.

Таблица

Видовой состав и численность зимующих птиц, зарегистрированных в Одесской области в период с 1 декабря 2002 по 30 января 2003 гг.

№	Вид		Количество особей
1	Чернозобая гагара	*Gavia arctica* L.	1
2	Чомга	*Podiceps cristatus* L.	441
3	Черношейная поганка	*Podiceps* nigricollis C.L.Brehm.	6
4	Малая поганка	*Podiceps ruficollis* Pall.	153
5	Малый баклан	*Phalacrocorax pygmeus* Pall.	290
6	Большой баклан	*Phalacrocorax carbo* L.	14
7	Большая выпь	*Botaurus stellaris* L.	12
8	Большая белая цапля	*Egretta alba* L.	4
9	Малая белая цапля	*Egretta garzetta* L.	-
10	Серая цапля	*Ardea cinerea* L.	33
11	Лебедь шипун	*Cygnus olor* Gm.	675
12	Лебедь кликун	*Cygnus cygnus* L.	293
13	Серый гусь	*Anser anser* L.	48
14	Белолобый гусь	*Anser albifrons* Scop.	5102
15	Краснозобая казарка	*Rufibrenta ruficollis* Pall.	336
16	Пеганка	*Tadorna tadorna* L.	1316
17	Широконоска	*Anas clypeata* L.	8
18	Кряква	*Anas platyrhynchos* L.	17943
19	Свиязь	*Anas penelope* L.	14
20	Шилохвость	*Anas acuta* L.	1
21	Чирок свистунок	*Anas querquedula* L.	1
22	Красноголовый нырок	*Aythya ferina* L.	8687
23	Обыкновенная гага	*Somateria mollissima* L.	6
24	Морянка	*Clangula hyemalis* L.	1
25	Хохлатая чернеть	*Aythya fuligula* L.	19569
26	Гоголь	*Bucephala clangula* L.	557
27	Луток	*Mergus albellus* L.	407
28	Средний крохаль	*Mergus serrator* L.	738
29	Большой крохаль	*Mergus merganser* L.	5
30	Орлан белохвост	*Haliaeetus albicilla* L.	14

Продолжение таблицы

№	Вид		Количество особей
31	Тетеревятник	*Accipiter gentilis* L.	-
32	Перепелятник	*Accipiter nisus* L.	15
33	Зимняк	*Buteo lagopus* Pontopp.	56
34	Канюк	*Buteo* buteo L.	30
35	Курганник	*Buteo rufinus* Cretzschm.	2
36	Болотный лунь	*Circus aeruginosus* L.	1
37	Полевой лунь	*Cyrcus cyaneus* L.	15
38	Сапсан	*Falco peregrinus* Tunst.	-
39	Пустельга	*Cerchneis tinnunculus* L.	15
40	Дербник	*Aesalon columbarius* L.	1
41	Фазан	*Phasianus colchicus* L.	-
42	Серая куропатка	*Perdix perdix* L.	-
43	Лысуха	*Fulica atra* L.	4490
44	Водяной пастушок	*Rallus aquaticus* L.	5
45	Камышница	*Gallinula chloropus* L.	68
46	Черныш	*Tringa ochropus* L.	4
47	Бекас	*Gallinago gallinago* L.	-
48	Хохотунья	*Larus cachinnans* Pontopp.	8730
49	Сизая чайка	*Larus canus* L.	6961
50	Озерная чайка	*Larus ridibundus* L.	2675
51	Малая чайка	*Larus minutus* Pall.	3
52	Вяхирь	*Columba palumbus* L.	1000
53	Сизый голубь	*Columba livia* L.	-
54	Кольчатая горлица	*Streptopelia decaocto* Frivald.	-
55	Сипуха	*Tyto alba* Scop.	-
56	Домовый сыч	*Athene noctua* Scop.	-
57	Ушастая сова	*Asio otus* L.	-
58	Болотная сова	*Asio flammeus* Pontopp.	-
59	Седой дятел	*Picus canus* Gm.	-
60	Большой пестрый дятел	*Dendrocopos major* L.	-
61	Сирийский дятел	*Dendrocopos siriacus* H.Ehr.	-

Продолжение таблицы

№	Вид		Количество особей
62	Малый пестрый дятел	*Dendrocopos minor* L.	-
63	Хохлатый жаворонок	*Galerida cristata* L.	-
64	Степной жаворонок	*Melanocorypha calandra* L.	-
65	Полевой жаворонок	*Alauda arvensis* L.	-
66	Горная трясогузка	*Motacilla cinerea* Tunst.	-
67	Белая трясогузка	*Motacilla alba* L.	-
68	Большой сорокопут	*Lanius excubitor* L.	-
69	Крапивник	*Troglodytes troglodytes* L.	-
70	Лесная завирушка	*Prunella modularis* L.	-
71	Зарянка	*Erithacus rubecula* L.	-
72	Горихвостка чернушка	*Phoenicurus ochruros*	-
73	Деряба	*Turdus viscivorus* L.	-
74	Черный дрозд	*Turdus merula* L.	-
75	Рябинник	*Turdus pilaris* L.	-
76	Белобровик	*Turdus iliacus* L.	-
77	Певчий дрозд	*Turdus philomelos* Brehm.	-
78	Усатая синица	*Panurus biarmicus* L.	-
79	Желтоголовый королек	*Regulus regulus* L.	-
80	Ополовник	*Aegithalos caudatus* L.	-
81	Ремез	*Remis pendulinus* L.	-
82	Московка	*Parus ater* L.	-
83	Большая синица	*Parus major* L.	-
84	Лазоревка	*Parus caeruleus* L.	-
85	Пищуха	*Certhia familiaris* L.	-
86	Просянка	*Emberiza calandra* L.	-
87	Обыкновенная овсянка	*Emberiza citrinella* L.	-
88	Камышевая овсянка	*Emberiza schoeniclus* L.	-
89	Зяблик	*Fringilla coelebs* L.	-
90	Юрок	*Fringilla montifringilla* L.	-
91	Зеленушка	*Chloris chloris* L.	-
92	Чиж	*Spinus spinus* L.	-

Окончание таблицы

№	Вид		Количество особей
93	Щегол	*Carduelis carduelis* L.	-
94	Коноплянка	*Cannabina cannabina* L.	-
95	Горная коноплянка	*Cannabina flavirostris* L.	-
96	Дубонос	*Coccothraustes coccothraustes* L.	-
97	Домовый воробей	*Passer domesticus* L.	-
98	Полевой воробей	*Passer* montanus L.	-
99	Скворец	*Sturnus vulgaris* L.	-
100	Сойка	*Garrulus glandarius* L.	-
101	Сорока	*Pica pica* L.	-
102	Грач	*Corvus frugilegus* L.	-
103	Галка	*Corvus monedula* L.	-
104	Серая ворона	*Corvus cornix* L.	-
105	Ворон	*Corvus corax* L.	-
106	Гуси (вид не определен)		63
	ИТОГО		**80813**

Примечание: "-" вид зарегистрирован на зимовке, но учет его численности не проводился

Среди водоплавающих видов птиц доминирующее место занимали утки, составляя 83,9%. Причем среди всех уток доминирующее место (60%) занимали нырковые утки — красноголовый нырок и хохлатая чернеть, составляя соответственно 8686 и 19569 особей, т. е. 10,7% и 24,2% от общего числа зарегистрированных птиц. Однако следует отметить, что численность этих двух видов в благоприятные зимы была намного выше, составляя для красноголового нырка в 1996 г. 42040 особей [1], а для хохлатой чернети в 1999 г. — 25405 особей [4]. Таким образом, в период зимних учетов 2002–2003 гг. численность этих двух видов составила всего лишь 77,0% для хохлатой чернети и 20,7% — для красноголового нырка по сравнению с благоприятными по погодным и другим условиям годами.

Особенностью зимовки на этих водоемах является то, что впервые на Сухом лимане было зарегистрировано 130 особей столь редкого вида как малый баклан, численность которого в последние годы стала несколько возрастать [6, 7]. Кроме того, из редких видов как на Сухом, так и на Григорьевском лимане зимовали орланы-белохвосты. Это характеризует Сухой и Григорьевский лиман как водоемы, играющие важнейшую роль в поддержании ряда редких видов.

Наиболее характерным для этой зимовки было то, что суммарная численность гусей была одной из самых низких за весь период наблюдений. Всего нами было зарегистрировано три вида — серый гусь, белолобый гусь и краснозобая казарка общей численностью в 5486 особей, тогда как в другие зимы и особенно зимой 1995—1996 гг, например, нами было зарегистрировано 91545 гусей пяти видов [1, 8, 10], что более чем в 15 раз выше численности гусей аномальной зимы 2002—2003 гг. Основной причиной низкой численности гусей послужила крайне слабая кормовая база. Из-за длительных морозов вымерзли основные плантации озимого ячменя и озимой пшеницы, а более стойкие посевы впоследствии были засыпаны снегом. И только на отдельных полях Килийского и Татарбунарского районов нами были обнаружены незначительные стаи гусей. Остальные птицы по указанным причинам отлетели в Румынию и Болгарию. Косвенным доказательством этого могут служить данные болгарских орнитологов о необычайно высокой численности зимующих гусей в районе болгарских озер Шабла и Даранкулак (устное сообщение члена Болгарского общества охраны птиц — С. Дерелиева).

Таким образом, в результате необычной зимы 2002—2003 гг. численность птиц в прибрежной зоне Черного моря Одесской области была в два раза ниже обычной. При этом, суровые условия зимы в первую очередь повлияли на гусеобразных птиц, сократив их численность более чем в 15 раз. В таких критических условиях важнейшие функции рефугиума для птиц выполняют два лимана — Сухой и Григорьевский, а также акватория Черного моря, прилегающая к ним [11]. Этот факт указывает на то, что эти лиманы подлежат включению в списки водно-болотных угодий, имеющих национальный статус.

Авторы выражают искреннюю благодарность и признательность всем, кто принимал участие и содействовал проведению учетов зимующих птиц. Особенно мы благодарны старшему научному сотруднику Дунайского биосферного заповедника Жмуду М. Е., молодым орнитологам Форманюку О. А. и Панченко П. С., а также студентам биологического факультета ОНУ Радькову Д., Ахраменко Д.

Литература

1. *Русев И. Т., Жмуд М. Е., Корзюков А. И., Гержик И. П., Павлов А. В., Потапов О. В.* Зимовки птиц в Северо-Западном Причерноморья // Экосистемы дикой природы. — 1996. — Вып. 3. — С. 1—42.
2. *Русев И. Т., Жмуд М. Е., Корзюков А. И., Гержик И. П., Сацык С. Ф., Потапов О. В.* Результаты рождественского учета зимующих птиц в Северо-Западном Причерноморье в 1997 г. // Сб. Экосистемы дикой природы. — 1997. — Вып. 6. — С. 19—50.
3. *Русев И. Т., Жмуд М. Е., Корзюков А. И., Гержик И. П., Сацык С. Ф., Потапов О. В., Роман Е. Г.* Характер зимовки птиц в Северо-Западном Причерноморье в 1998 г. // Сб.Зимние учеты птиц на Азово-Черноморском побережье Украины. — Алушта-Киев. — 1998. — Выпуск 1. — С. 22—47.
4. *Русев И. Т., Корзюков А. И.,Сацык С. Ф.* Мониторинг зимующих птиц в Северо-Западном Причерноморье в 1999 г. // Сб.Зимние учеты птиц на Азово-Черноморском побережье Украины. — Алушта-Киев. — 1999. — Выпуск 2. — С. 46—60.

5. *Русев И. Т., Корзюков А. И., Форманюк О. А., Панченко П. С.* Зимовки водоплавающих и водно-болотных птиц в Северо-Западном Причерноморье в 2000-2001 гг. // Мониторинг зимующих птиц в Азово-Черноморском регионе Украины. — Одесса-Киев — 2002. — С. 54—74.
6. *Rusev I. T.* Status of the Pygmy Cormorant (Phalacrocorax pygmaeus) in the Dniester delta // Ornithological research priorities. — Lviv. — 2003. — P. 167—168.
7. *Rusev I., Korzyukov A.* The current status and protection of the Pygmy Cormorant (Phalacrocorax pygmeus) in Ukraine // Vogelwelt. — 2003. — V. 123, suppl. — P. 1—4.
8. *Русев И. Т.* Пространственное распределение и численность белолобого гуся и краснозобой казарки в Северо-Западном Причерноморье в период осеннего пролета 1996 г. // Сб. Экосистемы дикой природы. — 1997. — Вып. 6. — С. 14—19.
9. *Русев И. Т., Лысенко В. И.* План действий по охране краснозобой казарки в Украине // Птицы Азово-Черноморского региона на рубеже тысячелетий. — Материалы юбилейной международной научной конференции, посвященной 20-летию Азово-Черноморской орнитологической рабочей группы, Одесса, 10—14 февраля 2000. — "Астропринт". — 2000. — С. 94—134.
10. *Rusev I. T., Korzyukov A. I.* Red-Breasted Goose in Ukraine // 6 th Annual Meeting of the Goose Specialist Group of Wetlands International. Abstracts. — Roosta , Estonia, 27 April — 2 May 2001. — P. 51—52.
11. *Русев И. Т., Корзюков А. И., Форманюк О. А., Панченко П. С., Гержик И. П.* Результаты мониторинга зимующих птиц в прибрежной зоне Одесской области в период 2002—2003 гг. // Материалы научно-практической конференции Азово-Черноморского орнитологического союза. — Николаев. — 2003. — С. 78—81.

І. Т. Русєв, А. І. Корзюков, І. П. Гержік
Український науково-дослідницький протичумний інститут ім. І. І. Мечникова,
вул. Церковна, 4, Одеса, 65026, Україна, e-mail: wildlife@paco.net

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
Шампанський пров., 2, Одеса, 65058, Украина, e-mail: olegk@te.net.ua

Азово-Чорноморська орнітологічна спілка,
Шампанський пров., 2, Одеса, 65058, Украина, e-mail: gerijk@te.net.ua

ТИСК АНОМАЛЬНОЇ ЗИМИ 2002-2003 РР. НА ВИДОВИЙ СКЛАД ТА ЧИСЕЛЬНІСТЬ ЗИМУЮЧИХ ПТАХІВ У ПРИБЕРЕЖНІЙ СМУЗІ ОДЕСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Резюме

В результаті моніторингу зимуючих птахів в прибережній смузі Чорного моря було встановлено, що аномальна зима 2002—2003 року виявила істотний тиск на чисельність зимуючих птахів. На зимовках домінували качки, які склали 83,9% загальної кількості птахів, хоч чисельність їх була вдвічі нижчою, ніж аналогічний показник звичайних зим. Чисельність гусок впала більш ніж у 15 раз, що було пов'язано з вкрай бідною кормовою базою. Головними рефугіумами для зимуючих птахів були Сухий та Григорівський лимани, а також прилегла до них акваторія Чорного моря.

Ключові слова: птахи, водно-болотні угіддя, чисельність та видовий склад зимуючих птахів.

I. T. Rusev, A. I. Korzyukov, I. P. Gergik
Ukrainian Mechnikov Research Anti plague Institute,
Tserkovnaya St., 2/4, Odessa, 65003, Ukraine, e-mail: wildlife@paco.net

Odessa National I.I.Mechnikov University, Department of Zoology,
Dvoryanska St., 2, Odessa, 65026, Ukraine, e-mail: olegk@te.net.ua

Azov and Black Sea Ornitological Union,
Shampansky Pereoulok, 2, Odessa, 65058, Ukraine, e-mail: gerjik@te.net.ua

INFLUENCE OF ABNORMAL WINTER OF 2002—2003. ON STRUCTURE OF SPECIES AND NUMBER OF WINTERING BIRDS IN THE ODESSA REGION COASTAL ZONE

Summary

As a result of monitoring wintering birds in the coastal area of the Black sea it was established, that the abnormal winter of 2002–2003 had sharply affected the number of wintering birds. Ducks dominated over wintering making 83,9 % though number of them was twice lower, than a similar parameter of usual winters. The number of geese has fallen more than in 15 times that was connected with the poorest reserve. The basic refugium for the wintering birds were the Sukhoi and the Grigorjevsky estuaries and adjoining to them the Black sea water area.

Keywords: birds, wetlands, number and species structure of the wintering birds.

МІКРОБІОЛОГІЯ І ВІРУСОЛОГІЯ

УДК 579:616-078

О. П. Конарева [1], В. О. Іваниця [1], С. П. Гвоздій [1], О. В. Шпортун [2]

[1] Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра мікробіології і вірусології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна, e-mail: ivanitsa@yandex.ru;

[2] Інститут мікробіології і вірусології НАН України,
вул. Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна

ХАРАКТЕРИСТИКА ДРІЖДЖЕПОДІБНОЇ МІКРОБІОТИ ШЛУНКУ ПРИ РІЗНИХ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНИХ ПАТОЛОГІЯХ НА ФОНІ ХЕЛІКОБАКТЕРІОЗУ

Вивчено дріжджеподібну мікробіоту слизової оболонки шлунку у хворих з різними гастродуоденальними патологіями на фоні хелікобактеріальної інфекції.

Встановлено залежність ступеня обсіменіння шлунку дріжджеподібними грибами і *Helicobacter pylori* від pH шлункового соку: при pH від 1 до 3 слизова шлунку переважно контамінована *Helicobacter pylori*, при pH від 5 до 7 — дріжджеподібними грибами.

Виділено 38 штамів дріжджеподібних грибів, віднесених до 5 родів: *Candida* (16 штамів), *Cryptococcus* (17), *Prototheca* (3), *Rhodotorula* (1) і *Torulopsis* (1). Вивчено чутливість виділених штамів до антибіотиків. Показано, що дріжджеподібні гриби роду *Cryptococcus*, на відміну від представників роду *Candida*, більш чутливі до антибіотиків широкого спектру дії, ніж до протигрибкових препаратів.

Ключові слова: дріжджеподібні гриби, *Helicobacter pylori*, гастродуоденальні патології, pH шлункового соку

Протягом останніх років увага багатьох дослідників прикута до вивчення ролі *Helicobacter pylori* в розвитку гастродуоденальних захворювань, таких як гастрити, виразкова хвороба шлунку та дванадцятипалої кишки (ВХШ і ВХДК). При цьому практично не звертається увага на супутні *Helicobacter pylori* мікроорганізми, зокрема дріжджеподібні гриби, частота виявлення яких у шлунку, за даними літератури, становить 40—80% [1]. Традиційно вважається, що дріжджеподібні гриби є компонентом нормальної мікробіоти травного тракту [2, 3, 4]. Однак повсюдне зростання кількості уражень, що їх ініційовано патогенними дріжджами, зумовлює необхідність більш уважного відношення до персистенції цих організмів.

Відомо також, що грибкова інвазія виразок шлунку негативно позначається на їхній репарації, подовжуючи терміни гоєння виразкових дефектів [5].

Метою даної роботи було виявлення і вивчення дріжджеподібної мікробіоти шлунку за різних гастродуоденальних патологій на фоні хелікобактеріальної інфекції.

© О. П. Конарева, В. О. Іваниця, С. П. Гвоздій, О. В. Шпортун, 2004

Матеріали і методи

Об'єктом дослідження служили 24 проби біоптатів слизової антрального відділу шлунку, одержані від хворих з різними гастродуоденальними патологіями під час фіброгастродуоденоскопії.

Ділянки слизової розміром 6,0±0,5 мм^3 поміщали в транспортне тіогліколеве середовище і досліджували не пізніше, як через 2 години [3].

Біоптати подрібнювали до одержання однорідної суспензії. Одержану суспензію висівали на щільні кров'яні поживні середовища (еритрит-, колумбія-, бруцелла-агар) з доданням 10% кінської сироватки. Посіви було інкубовано 48 годин при 37 °С в атмосфері, яка містить 5 % кисню, 10 % вуглекислого газу і 85% азоту.

Паралельно готували мазки-відбитки для бактеріоскопічного виявлення *Helicobacter pylori*. Препарати забарвлювали метиленовим синім за методом Мансона [3]. Оцінку рівня обсіменіння вели за триплюсовою системою: + — слабке, ++ — середнє і +++ — високе обсіменіння [6].

Колонії, що зросли, проглядали під бінокулярною лупою (МБС-10), з них готували препарати, фарбували їх водним розчином фуксину і підозрілі на дріжджеподібні гриби відсівали на середовище Сабуро.

Належність штамів до дріжджеподібних грибів встановлювали за такими морфологічними ознаками, як розмір клітин, здатність до брунькування, утворення псевдоміцелію і хламідоспор, наявність капсули, диференціювання ядра і цитоплазми [7].

Видову належність виділених культур визначали на основі вивчення деяких біохімічних і тинкторіальних властивостей: утилізації вуглеводів за аеробних і анаеробних умов, наявності уреази, редукції нітратів, росту при 10% NaCl, здатності утворювати крохмаль, наявності жирових включень, а також характеру росту на щільних та рідких поживних середовищах, росту при різних температурних режимах [8].

Результати і обговорення

Контингент обстежених хворих було поділено відповідно виявленим хворобам:

1. Поверхневий гастрит і поверхневий гастродуоденит (ПГ и ПГД);
2. Ерозивний гастрит (ЕГ);
3. Виразкова хвороба шлунку і виразкова хвороба 12-палої кишки (ВХШ і ВХДК);
4. Жовчний рефлюкс (ЖР).

Попередній аналіз наведених у таблиці 1 даних показав, що ступінь обсіменіння слизової шлунку дріжджеподібними грибами і їхній якісний склад залежав не стільки від характеру патології, скільки від pH шлункового соку. Тому надалі дані всіх обстежень було поділено на 2 групи залежно від значення pH шлункового соку: до першої групи входили хворі, у яких pH шлункового соку була в межах

від 1 до 3 — що становило 51,2 % обстежених, до другої — з pH від 5 до 7, тобто 48,8 % обстежених хворих.

Таблиця 1

Кількісний вміст дріжджеподібних грибів при різних патологіях шлунку і 12-палої кишки (P ≤ 0,05)

№ проб	pH шлункового соку	Клінічний діагноз	Ступінь обсіменіння	
			дріжджеподібними грибами (КУО/мм^3)	*Helicobacter pylori*
1	2	ПГ	50±14	+++
2	2	-"-	42±10	+
3	3	-"-	320±12	++
4	3	-"-	132±18	+++
5	3	ЕГ	150±12	++
6	3	-"-	180±16	++
7	1	-"-	10±1	-
8	3	-"-	250±12	+
9	3	ВХДК	240±28	++
10	3	-"-	280±21	++
11	3	-"-	160±24	++
12	3	ВХШ	380±21	+++
13	3	ЖР	8±2	-
14	3	-"-	4±1	-
15	3	-"-	24±3*	+
16	6	ПГД	2400±31	-
17	6	-"-	1400±25	-
18	5	-"-	398±16	+
19	6	-"-	2100±18	-
20	6	-"-	1690±15	-
21	7	-"-	3200±27	-
22	6	-"-	2150±32	-
23	6	ВХДК	350±14	+
24	6	-"-	750±30	+

Примітка: пояснення до таблиці у тексті

Одержані дані (табл. 1) свідчать про те, що дріжджеподібні гриби було виявлено в 95,8 % досліджуваних проб біоптатів. Тільки в одній пробі дріжджеподібних грибів виявлено не було. Обсіменіння цього зразка становило 24±3* КУО/мм^3 і, можливо, було обумовлене наявністю *Helicobacter pylori*. У хворих при ПГ, ЕГ, ВХШ і ВХДК з підвищеною кислотністю шлункового соку (pH 1—3) обсіменіння дріжджеподібними грибами знаходилось у межах від 4 до 320 КУО/мм^3 біоптату. Ступінь обсіменіння біоптатів при pH шлункового соку, що дорівнює 1—2, був на порядок вищим за рівень обсіменіння при pH рівному 3.

При значеннях pH шлункового соку від 5 до 7 ступінь обсіменіння біоптатів був на порядок вищим, ніж при pH 3, і на два порядки — у порівнянні з рівнем при pH 1—2 (від 350 до 3200 КУО/мм^3).

Це, очевидно, пов'язано з тим, що оптимальним для життєдіяльності дріжджеподібних грибів є pH 5,5—6,5. При pH 1—2 спроможні виживати лише найбільш стійкі до впливу соляної кислоти і ферментів шлунку дріжджеподібні гриби.

Що стосується *Helicobacter pylori*, то оптимальним значенням для даного мікроорганізму in vivo є pH 2—3 [9]. Це підтверджують дані, які представлено в таблиці 1. Слизова шлунку хворих на ПГ, ЕГ, ВХШ і ВХДК з pH шлункового соку 1—3 за виключенням одного випадку була в різній мірі інфікована *Helicobacter pylori*. При pH 5—7 слизова шлунку переважно контамінована дріжджеподібними грибами.

Встановлено, що ступінь обсіменіння біоптатів дріжджеподібними грибами при діагнозі жовчний рефлюкс значно відрізнявся від такого при інших клінічних діагнозах (4—24 проти 132—380 КУО/мм^3 відповідно при pH шлункового соку, що дорівнює 3). Скоріше за все це пов'язано із згубним впливом жовчних кислот на ці мікроорганізми.

В результаті проведених досліджень виділено 38 штамів дріжджеподібних грибів, які було віднесено до 5 родів: *Cryptococcus* (17 штамів), *Candida* (16), *Prototheca* (3), *Rhodotorula* (1) и *Torulopsis* (1).

Необхідно відзначити, що нами вперше були описані біологічні властивості дріжджеподібних грибів роду Cryptococcus, виділених зі слизової шлунку. Причому деякі властивості у штамів дріжджеподібних грибів, що вивчалися (табл. 2), відрізнялися від властивостей, описаних у літературі [2, 10—13]. Автори вказують на низьку здатність криптококків зброджувати вуглеводи. В наших дослідженнях, на відміну від даних літератури, дріжджеподібні гриби роду Cryptococcus в більшій чи меншій мірі ферментували цукри (табл. 2).

Як видно з даних, представлених в таблиці 3, найбільша частота стрівальності приходиться на гриби роду *Cryptococcus* (75%) і роду *Candida* (62,5%). Серед штамів роду *Cryptococcus* найбільш часто зустрічалися *Cryptococcus neoformans* (50%), а серед штамів роду *Candida* — *Candida albicans* (43,8%).

За усередненими даними, згідно з питомою вагою чисельності різних представників дріжджеподібних грибів у сумі всіх ізольованих із зразка, домінують представники родів *Cryptococcus* і *Candida*, частка інших дріжджеподібних грибів незначна (рис. 1). Серед поєднань найбільш часто зустрічається поєднання грибів родів *Cryptococcus* і *Candida* (в 95,8 % випадків).

Оскільки при лікуванні різних гастродуоденальних захворювань рекомендується вживання антибіотиків для ерадикації *Helicobacter pylori* як етіологічного фактора запального процесу, певний інтерес представляє вивчення чутливості виділених домінуючих дріжджеподібних грибів до ряду антибіотиків як протигрибкового, так і широкого спектру дії.

Таблиця 2

Біологічні властивості дріжджеподібних грибів, виділених від хворих з різними патологіями шлунку та 12-палої кишки

Вид	Зростання при 37° С	Наявність капсули	Псевдоміцелій	Ріст при 10% NaCl	Ріст на рідких середовищах	Редукція нітратів	Утилізація вуглеводів							
							Окиснення				Ферментація			
							мальтоза	лактоза	галактоза	глюкоза	мальтоза	лактоза	галактоза	глюкоза
Candida albicans	+	-	+	+	ДЗ	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Candida krusei	+	-	+	-	Пл	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Candida sp.	+	-	-	-	Ос	-	+	-	+	-	+	-	-	-
Cryptococcus neoformans	+	+	-	+	Ос	-	+	-	+	+	+	-	+	-
Cryptococcus laurentii	+	+	-	+	ДЗ Ос	-	+	+	+	-	+	+	+	+
Cryptococcus species	+	+	-	+	Ос	+	+	+	-	+	+	-	+	-
Prototheca wikerchamii	+	-	-	-	ДЗ	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Rhodotorula minuta	+	-	-	+	Ос Пл	+	+	-	+	-	-	-	-	-
Torulopsis glabrata	+	-	-	-	ДЗ	-	-	-	-	+	-	-	-	-

Умовні позначення: ДЗ — дифузне зростання; Пл — плівка; Ос — осад

Таблиця 3

Частота стрівальності дріжджеподібних грибів у хворих з різними патологіями шлунку та 12-палої кишки (P ≤ 0,05)

Рід, вид	Частота стрівальності (%)
Candida	62,5±1,8
Candida albicans	43,8±3,2
Candida krusei	18,8±0,2
Candida sp.	37,4±1,2
Cryptococcus	75,0±2,4
Cryptococcus neoformans	50,0±3,5
Cryptococcus laurentia	27,8±1,4
Cryptococcus sp.	22,2±2,3
Prototheca wikerchamii	45,8±1,9
Rhodotorula minuta	41,6±1,7
Torulopsis glabrata	3,2±0,5

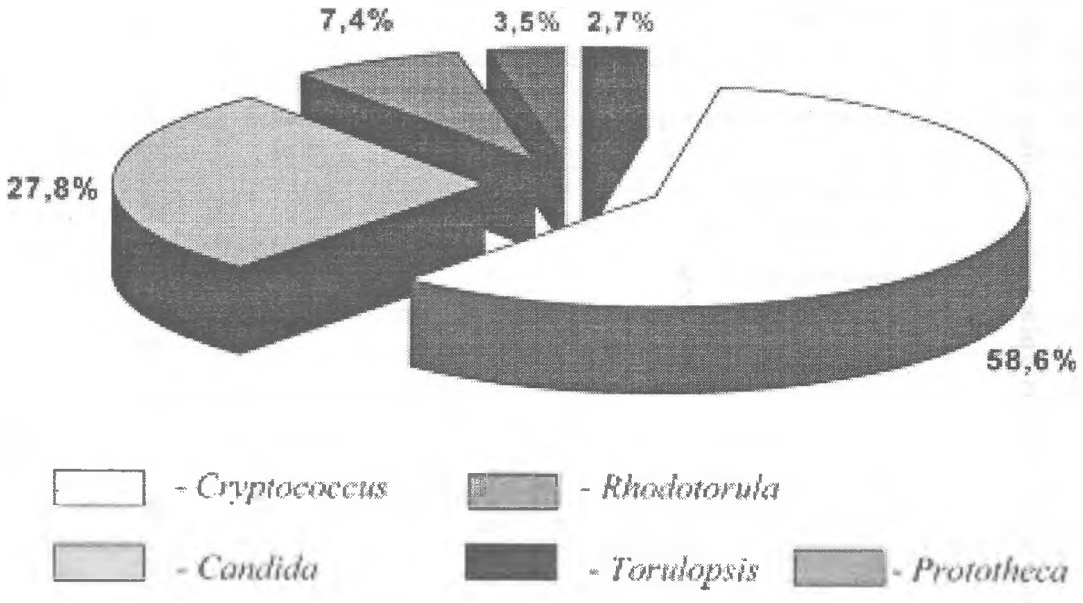


Рис. 1. Усереднені дані за питомою вагою чисельності різних представників дріжджеподібних грибів, що контамінують слизову шлунка

Таблиця 4

Чутливість виділених штамів дріжджеподібних грибів до антибіотиків

Антибіотик	Кількість чутливих штамів			
	Cryptococcus		*Candida*	
	абс.	%	абс.	%
Цефазолін	6	35,3	0	0
Фузідін	7	41,2	0	0
Неоміцин	10	58,8	0	0
Тобраміцин	8	47,1	0	0
Кліндаміцин	10	58,8	0	0
Доксіциклін	12	70,6	2	12,5
Олеандоміцин	8	47,1	0	0
Ріфампіцин	9	52,9	3	17,6
Левоміцетин	8	47,1	2	12,5
Амфотеріцин В	4	23,5	14	87,5
Ністатин	4	23,5	16	100
Клотримазол	11	64,7	16	100
Всього штамів	17		16	

Як видно з таблиці 4, представники роду *Cryptococcus* найбільшу чутливість виявили у відношенні доксіцикліну і клотримазолу. До кліндаміцину, неоміцину, ріфампіцину виявилися чутливими близько 50% штамів. Найменшу чутливість криптококки виявляли до дії амфотеріцину В і ністатину.

Що стосується грибів роду *Candida*, то 100 % штамів були чутливими до ністатину і клотримазолу, 87,5 % — до амфотеріцину. При цьому 100 % штамів резистентні до дії цефазоліну, фузідіну, неоміцину, тобраміцину, кліндаміцину і олеандоміцину. До доксіцикліну, ріфампіцину, левоміцетину гриби роду *Candida* виявили слабку чутливість.

Виходячи з одержаних даних, слід відмітити, що виділені дріжджеподібні гриби відрізнялися ступенем чутливості до досліджуваних антибіотиків. На гриби роду *Candida* впливали переважно протигрибкові препарати, тоді як на дріжджеподібні гриби роду *Cryptococcus* — антибіотики широкого спектру дії.

Таким чином, в результаті проведених досліджень було встановлено, що одним із факторів, які впливають на ступінь обсіменіння мі-

кроорганізмами слизової шлунка і якісний склад мікробіоти, є pH шлункового соку.

Слизова шлунка у осіб з різними гастродуоденальними патологіями значною мірою контамінована дріжджеподібними грибами, переважно родів *Cryptococcus* і *Candida*. Причому деякі представники цих родів, зокрема *Cryptococcus neoformans* і *Candida albicans*, за даними літератури [7, 14, 15], є патогенними для людини дріжджами, що викликають різні грибкові ураження та інвазію, і грають, очевидно, не останню роль у розвитку виразкових хвороб.

З'ясовано, що за наявності у біоптатах *Helicobacter pylori* питома вага дріжджеподібних грибів значно нижча, ніж за його відсутності, тобто виявлено зворотну залежність у кількісних співвідношеннях *Helicobacter pylori* і дріжджеподібних грибів.

Висновки

1. Одним із факторів, які впливають на ступінь обсіменіння мікроорганізмами слизової шлунку і якісний склад мікробіоти, є pH шлункового соку.
2. Слизова шлунка у осіб з різними гастродуоденальними патологіями значною мірою контамінована дріжджеподібними грибами, переважно родів *Cryptococcus* і *Candida*.
3. За наявності у біоптатах *Helicobacter pylori* питома вага дріжджеподібних грибів значно нижча, ніж за його відсутності.
4. На гриби роду *Candida* впливали переважно протигрибкові препарати, тоді як на дріжджеподібні гриби роду *Cryptococcus* — антибіотики широкого спектру дії.

Література

1. *Крылов А. А., Земляной А. Г., Михайлович В. А., Иванов А. И.* Неотложная гастроэнтерология: руководство для врачей. — Л.: Медицина. — 1988. — С. 10—12.
2. *Борисов Л. Б.* Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. — М.: ООО "Медицинское информационное агентство", 2002. — С. 606—633.
3. *Минаев В. И., Черкасский Б. Л., Минаева Н. З.* Лабораторная диагностика компилобактериоза в современных условиях // ЖМЭИ. — 1991. — № 8. — С. 18—21.
4. *Хмельницкий О. К., Аравийский Р. А.* Кандидоз // Патол., анатомия, химиотерапия. — Л.: Медицина. — 1984. — 199 с.
5. *Баженов Т. Г., Перепелова И. Н. Helicobacter pylori* и грибы рода *Candida* при гастродуоденальной патологии // ЖМЭИ. — 1997. — № 3. — С. 100—101.
6. *Ильченко А. А., Коршиков В. М., Аруин Л. И.* Микрофлора кишечника и кислотообразующая функция желудка у больных язвенной болезнью с пилорическим хеликобактериозом // ЖМЭИ. — 1991. — № 10. — С. 17—19.
7. *Елинов Н. П.* Патогенные дрожжеподобные организмы. — М.: Медицина, 1964. — 384 с.
8. *Кашкин Л. Н., Хохряков М. К., Кашкин Л. П.* Определитель патогенных, токсигенных и вредных для человека грибов. — М.: Медицина, 1979. — 270 с.
9. *Ивашкин В. Г. Helicobacter pylori*: биологические характеристики, патогенез, перспективы, эрадикация // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатолог., колопракт. — 1997. — № 1. — С. 21—23.

10. *Голубев В. И.* Таксономия и идентификация дрожжеподобных грибов рода *Cryptococcus*. — Пущино: НЦБИ, 1980. — 90 с.
11. *Медицинская* микробиология / Под ред. акад. РАМН В. И. Покровского. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. — С. 505—523.
12. *Behrend G.* Yeasts. — Amsterdam, 1952. — 241 p.
13. *Benham R. W.* The genus *Cryptococcus* the presentstatus and the criteria for the identification of species // Trans New York Acad. Sci. — 1955. — 11, № 17. — P. 418—430.
14. *Лещенко В. М.* Лабораторная диагностика грибковых заболеваний. — М.: Медицина, 1982. — 143 с.
15. *Manual* of Clinical Microbiology / Editor in Chef, Albert Balows. — Washington, American Society for microbiology. — 1991. — 1364 p.

О. П. Конарева, В. А. Иваница, С. П. Гвоздий, О. В. Шпортун
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина;

Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины,
ул. Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина

ХАРАКТЕРИСТИКА ДРОЖЖЕПОДОБНОЙ МИКРОБИОТЫ ЖЕЛУДКА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНЫХ ПАТОЛОГИЯХ НА ФОНЕ ХЕЛИКОБАКТЕРИОЗА

Резюме

Изучена дрожжеподобная микробиота слизистой желудка больных с различными гастродуоденальными патологиями на фоне хеликобактерной инфекции.

Установлена зависимость степени обсеменения желудка дрожжеподобными грибами и *Helicobacter pylori* от pH желудочного сока: при pH 1—3 слизистая желудка преимущественно контаминирована *Helicobacter pylori*, при pH 5—7 — дрожжеподобными грибами.

Выделено 38 штаммов дрожжеподобных грибов, которые были отнесены к 5 родам: *Candida* (16 штаммов), *Cryptococcus* (17), *Prototheca* (3), *Rhodotorula* (1) и *Torulopsis* (1).

Изучена чувствительность выделенных штаммов к антибиотикам. Показано, что дрожжеподобные грибы рода *Cryptococcus*, в отличие от представителей рода *Candida*, в большей степени чувствительны к антибиотикам широкого спектра действия, нежели к противогрибковым препаратам.

Ключевые слова: дрожжеподобные грибы, *Helicobacter pylori*, гастродуоденальные патологии, pH желудочного сока.

O. P. Konareva, V. A. Ivanitsa, S. P. Gvosdiy, O. V. Shportun
I. I. Mechnikov Odessa National University,
Institute of Microbiology and Virology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev

CHARACTERISTIC OF STOMACH YEAST-LIKE MICROBIOTA IN VARIOUS GASTRODUODENAL PATHOLOGIES ON THE BACKGROUND OF PYLORIC HELICOBACTERIOSIS

Summary

The yeast-like microbiota of stomach mucosa in patients with various gastroduodenal pathologies complicated by helicobacterial infection has been studied.

The dependence of stomach contamination upon yeast-like fungi and *Helicobacter pylori* from gastric juice pH has been established: the stomach mucosa was contaminated mostly by *Helicobacter pylori* at pH 1—3 and mostly by yeast-like fungi at pH 5—7.

38 strains refeed to five genera have been isolated: *Candida* (16 strains), *Cryptococcus* (17), *Prototheca* (3), *Rhodotorula* (1) і *Torulopsis* (1).

Sensitivity of the isolated strains to antibiotics has been studied. It was shown that yeast-like fungi of genus *Cryptococcus* unlike the representatives of genus *Candida* are more sensitive to wide-spectrum antibiotics than to antifungal medicines.

Keywords: yeast-like fungi, *Helicobacter pylori*, gastroduodenal pathologies, pH of gastric juice.

УДК 579.864

І. Б. Псахис, асп., **В. О. Іваниця**, д-р біол. наук, проф., зав. каф.
Одеський національний університет, кафедра мікробіології і вірусології, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65029, Україна

МІКРОБНИЙ СКЛАД БІОПЛІВОК УСТАНОВОК ДОДАТКОВОГО ОЧИЩЕННЯ ПИТНОЇ ВОДИ

Було проведено дослідження біоплівки, яка утворюється на вугільних фільтрах у трьох типах установок додаткового очищення води, які працюють в місті Одесі. Вивчено якісний мікробіологічний склад біоплівки, якісний розподіл мікроорганізмів у різних шарах вугільного фільтру. Визначено вплив активного вугілля, яке використовується у працюючих установках, на якість води, що пройшла додаткове очищення.
Ключові слова: біоплівка, вугільний фільтр, мікробіологічний склад.

Проблема забезпечення населення доброякісною питною водою вкрай гостра [1,2]. Різке погіршення стану джерел водопостачання України внаслідок їх забруднення нітратами, важкими металами, нафтопродуктами, пестицидами, утворює серйозні труднощі при забезпеченні населення якісною питною водою [3].

Актуальність проблеми підвищення якості водопровідної води обумовлена тим, що традиційні методи очищення води на станціях водопідготовки практично не усувають з природних вод вищеназвані забрудники [4,5].

Біологічне очищення води — основний метод охорони природних вод від хімічного та біологічного забруднення [6]. Біоплівка — головний дійовий гідро біоценоз таких очищених споруд, як біофільтри та обертові біоконтактори [7]. Забруднення, які є у воді, сорбуються біоплівкою та окислюються мікроорганізмами [8].

Метою даного дослідження було визначення і порівняння мікробного складу біоплівки, яка утворюється на вугільних фільтрах різних типів, що використовуються в установках додаткового очищення води, які працюють в місті Одесі.

Матеріали і методи

Були досліджені вугільні фільтри, встановлені на установках додаткового очищення питної води: 1) застосовується подвійне озонування (до і після вугільного фільтру); 2) застосовується озонування після вугільного фільтру; 3) застосовується дезінфекція води за допомогою ультрафіолетової лампи після вугільного фільтру. Були досліджені установки, де фільтр мінявся через 1 рік, 2 роки і 5 років. Санітарно-мікробіологічні та хімічні показники води, яка пройшла додаткове очищення, проводилися у фізико-хімічній та мікробіологічній лабораторіях науково-технічного центру "Водообробка".

© І. Б. Псахис, В. О. Іваниця, 2004

Активне вугілля, що досліджувалося, відмивалося протягом доби стерильною дистильованою водою, а потім робився посів на диференційно-діагностичні середовища [9, 10, 11].

Число в 1 дм^3 бактерій групи кишкових паличок (БГКП), E. coli, ентерококів визначали відповідно до Методичних вказівок № 2285-81 [12]. Загальне мікробне число (ЗМЧ) визначали за ДСТ 18963 — 73 у 1 см^3.

Якісний склад мікробіоти біоплівки вугілля визначали стандартними бактеріологічними методами.

Результати та їх обговорення

Вугілля було відібрано у трьох точках (верх, середина, дно).

Як показано на рис. 1, найбільша кількість мікроорганізмів утворює біоплівку на дні, так як вода проходить через вугільний фільтр під тиском, на дні затримується більшість мікроорганізмів. Чим довше використовується вугільний фільтр, тим більше мікроорганізмів виявляється на ньому. Так ЗМЧ на дні вугільного фільтру складає $1040 \cdot 10^4$ (КОЕ/дм^3). Щодо бактерій групи кишкової палички, то і тут визначається значна різниця між нижніми та верхніми шарами вугільного фільтру (900 та 50)* (КОЕ/дм^3) відповідно.

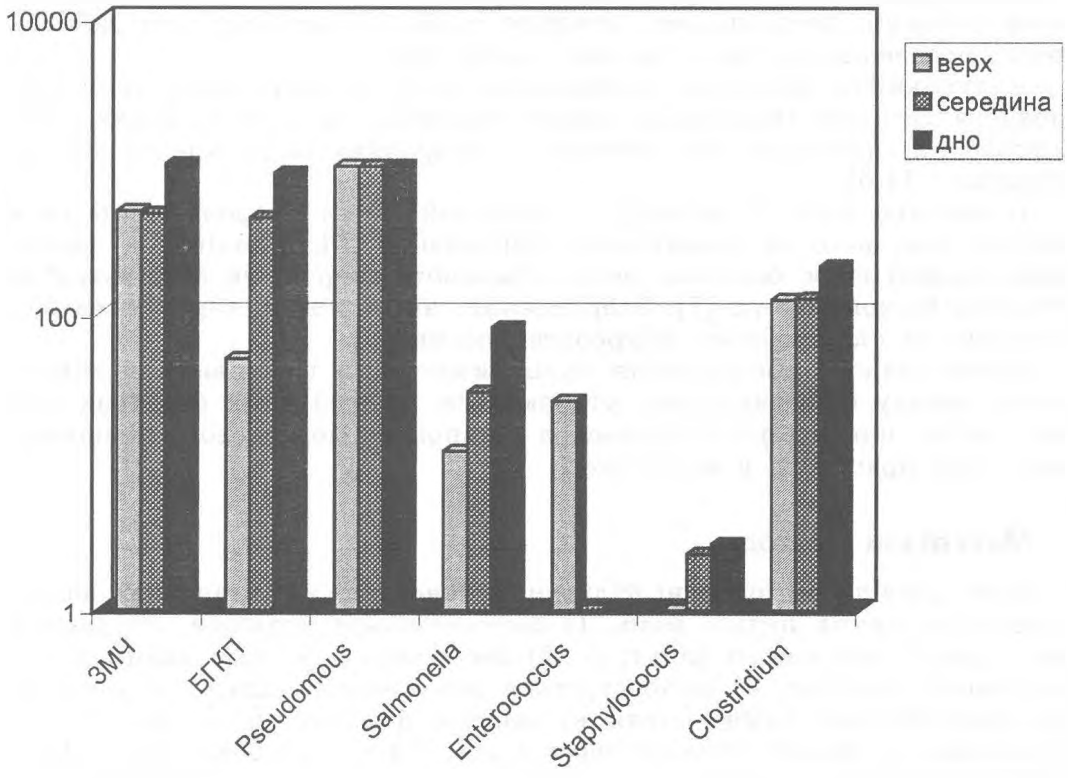


Рис. 1. Мікробіологічний склад біоплівки установки озонування та фільтрації води 20.

На рис. 2 показаний мікробний склад біоплівки, утвореної на вугільному фільтрі, у якому застосовується озонування після вугільного фільтру. На даному вугільному фільтрі мікробний склад значно більший, ніж на попередньому, що можна пояснити відсутністю додаткового дезінфікування води. ЗМЧ практично однакове на усіх рівнях і дорівнює $3000 \cdot 10^4$ (КОЕ/дм^3). Це свідчить про достатню зношеність фільтру.

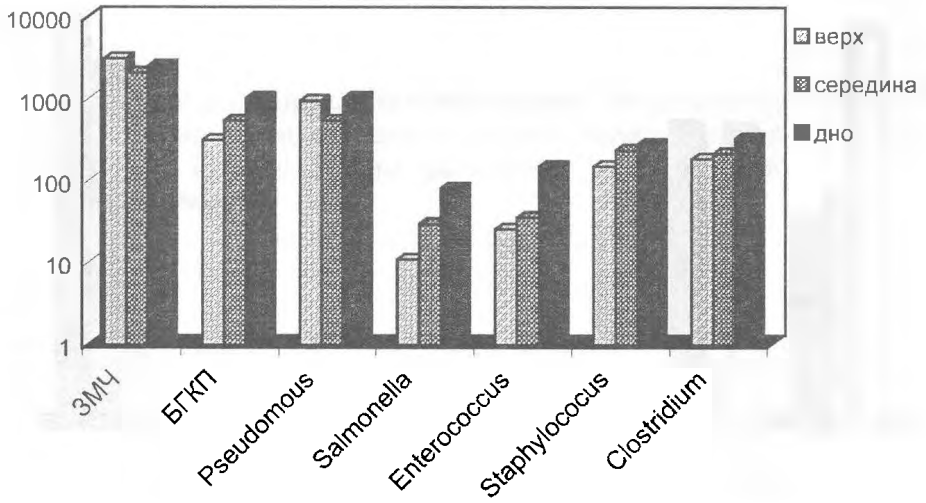


Рис. 2. Мікробіологічний склад біоплівки вугільного фільтру установки озонування і фільтрації води 2. -

При порівнянні води, яка пройшла доочищення на обох установках, необхідно визначити, що вода відповідає усім стандартам, ані хімічні, ані мікробіологічні показники не перевищують встановлених нормативів.

При розгляданні біоплівки на установах де застосовується дезінфекція води за допомогою ультрафіолетової лампи після вугілля, продемонстровано (рис. 3), що мікробний склад представлений слабо, багато мікроорганізмів, які відносяться до таких родів як Pseudomonas, Enterococcus, Salmonella не затрималося на вугіллі, що використовувалося у даній установці. ЗМЧ у 10 разів нижче, ніж на вугільному фільтрі в УОФВ-2 і складає $216 \cdot 10^4$ (КОЕ/дм^3) нагорі і $(22 \text{ та } 16) \cdot 10^4$ (КОЕ/дм^3) в середині й на дні, що демонструє високу зношеність фільтру, низьку адсорбційну активність активного вугілля, яке використовувалося у даній водоочисній установці. Хімічний і санітарно-біологічний аналіз води, яка пройшла додаткове очищення на даній установці не відповідає нормативам, не зважаючи на знезаражування ультрафіолетовою лампою.

Нами був проведений аналіз шістьох вугільних фільтрів, використаних на різних водоочисних установках, що проводили очищення води в місті Одесі. Було розглянуто вугільні фільтри, які використовувались протягом одного, двох та п'яти років. Рис. 4 показує, що найменший мікробний склад представляє біоплівку вугільного фільтру, який використовувався протягом п'яти років, найбільша кількість мікроорганізмів розташовано у верхніх шарах фільтру. Санітарно-мік-

робіологічні дослідження води, яка пройшла через такі фільтри, показує, що даний фільтр не придатний до використання, так як його адсорбційна та утримуюча активність дуже низька.

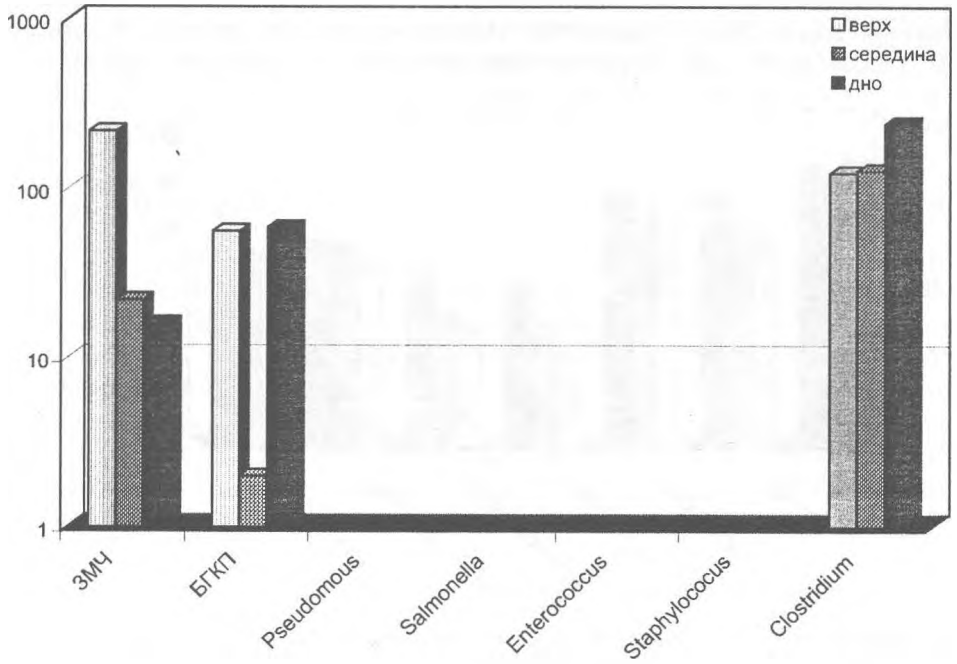


Рис. 3. Мікробіологічний склад біоплівки вугільного фільтру водоочисної установки "Мідія-05".

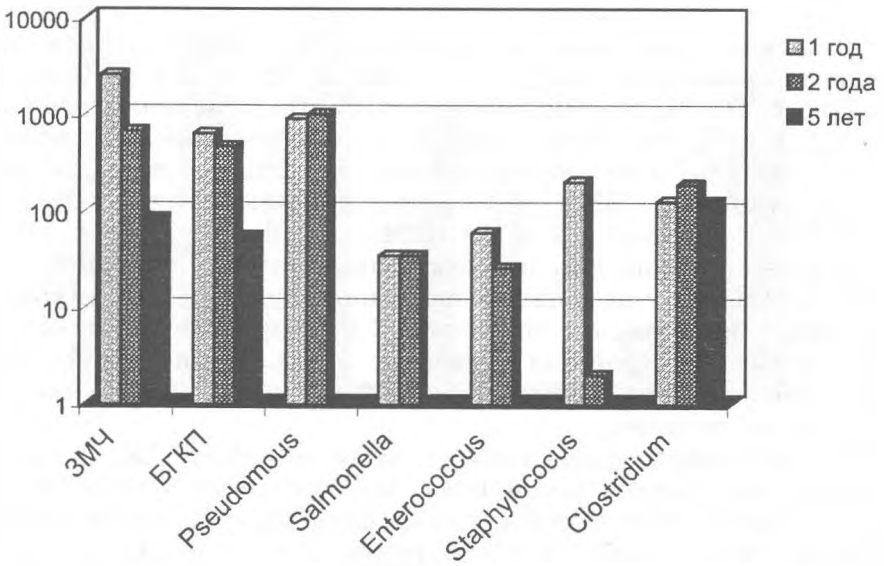


Рис. 4. Мікробіологічний склад біоплівок, які утворюються на різних вугільних фільтрах.

При розгляданні якісного мікробного складу біоплівок, на різних вугільних фільтрах слід відмітити, що крім наданих родів на рис. 1—4 були виявлені мікроорганізми, що відносилися до роду Bacillus, Streptococcus, Micrococcus, Klebsiella, однак дані організми не являються санітарно-показними. Слід зазначити, що у воді, яка пройшла доочищення, дані мікроорганізми не були виявлені.

Висновки

Проведені дослідження показали вплив біоплівки на санітарно-мікробіологічні показники очищення питної води, необхідність щорічного спостереження за вугільними фільтрами установок додаткового очищення питної води.

Література

1. *Климентьев И. Н., Бабич И. В.* Проблема питьевого водоснабжения города Одессы / Качество воды и здоровье человека. Сборник научных статей. — Одесса: ОЦНТЭИ, 1999. — С. 203—204.
2. *Красовский Г. Н., Литвинов Н. Н., Михайловский Н. Л.* Окружающая среда и здоровье. — М.: Секретариат СЭВ, 1985. — С. 92—96.
3. *Кульский Л. А.* Основы химии и технологии воды. — Киев: Наукова думка, 1991. — С. 212—215.
4. *Литвина Т. Н.* Качество питьевой воды / Качество воды и здоровье человека. Сборник научных статей. — Одесса: ОЦНТЭИ, 1999. — С. 205—206.
5. *Таубе П. Р., Баранова А. Г.* Химия и микробиология воды. — М.: Высшая школа, 1983. — С. 151—153.
6. *Фізико-хімічні* основи технології очищення стічних вод / Під ред. Запольського А. К. — Київ: Лібра, 2000. — С. 485—495.
7. *Войтенко А. М., Петренко Н. Ф., Шутько М. В.* Загрязнение питьевой воды нитратами: Метод очистки, гигиенический анализ существующих технологий // Питьевая вода-98. Сборник материалов IV международной научно-технической конференции 1998 г. — Одесса: Астропринт, 1998. — С. 76—79.
8. *Войтенко А. В., Петренко Н. Ф.* Гигиеническая оценка некоторых активных углей для применения в водоочистке // Питьевая вода-98. Сборник материалов IV международной научно-технической конференции 1998 г. — Одесса: Астропринт, 1998. — С. 166—167.
9. *ГОСТ 4453-74.* Уголь активный осветляющий древесный порошкообразный. Технические условия. — М.: Издательство стандартов, 1988. — 25 с.
10. *ГОСТ 6217-74.* Уголь активный древесный дробленый. Технические условия. — М.: Издательство стандартов, 1989. — 11 с.
11. *Руководство* по контролю качества питьевой воды. ВОЗ. — М.: Медицина, 1986. — С. 43—44.
12. *ГОСТ 2874-82.* Вода питьевая. Гигиенические требования и контроль за качеством. — М.: Издательство стандартов, 1984. — 8 с.
13. *МУ № 42-50-87.* Методические указания по гигиенической оценке фильтрующих материалов, предлагаемых для использования в практике хозяйственно-питьевого водоснабжения.

И. Б. Псахис, В. А. Иваница
Одесский национальний университет им. И. И. Мечникова,
кафедра микробиологии и вирусологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65029, Украина

МИКРОБНЫЙ СОСТАВ БИОПЛЕНОК УСТАНОВОК ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ ОЧИСТКИ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ

Резюме

Были проведены исследования биопленки, образующейся на угольных фильтрах в трех типах установок дополнительной очистки воды, работающих в городе Одессе. Изучен качественный микробиологический состав биопленки, количественное распределение микроорганизмов в различных слоях угольного фильтра. Определено влияние активных углей, используемых в работающих установках на качество воды, прошедшей дополнительную очистку.

Ключевые слова: биопленка, угольный фильтр, микробиологический состав.

I. B. Psakhis, V. A. Ivanitsa
Odessa I. I. Mechnikov National University,
Department of Microbiology and Virology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

BIOFILM MICROBIAL COMPOSITION IN THE WATER TREATMENT PLANTS

Summary

There were prepared investigation of biofilms that formed at the activated carbon filter at the three types of water treatment plants which working at the Odessa city. It have been studied quality microbial composition of biofilms, quantity distribution of microorganisms at the different layers of carbon filters. It have been found out the influation of activated carbon that used at the working water treatment plants on water quality after additional treatment.

Keywords: biofilm, carbon filter, microbial composition.

УДК 582.28:579.6

О. Л. Рахімова [1], асист., **В. М. Тоцький** [2], д-р біол. наук, проф.,
О. В. Бабаянц [3], канд. біол. н.аук зав. відділом фітопатології,
В. О. Іваниця [1] д-р біол. наук, проф., зав. кафедри
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
[1] каф. мікробіології та вірусології,
[2] каф. генетики та молекулярної біології
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна, e-mail:
ogumicro@te.net.ua(subj:Rakh:mova)

[3] Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насінництва та сортовивчення УААН,
Овідіопольска дор., 3, Одесса, 65036, Україна

ВПЛИВ ЕКСТРАКТІВ ЇСТІВНИХ ГРИБІВ НА МІКРООРГАНІЗМИ

Досліджували антимікробні властивості екстрактів двох сортів Атол і Отрада Гливи звичайної (*Pleurotus ostreatus*) і штаму Delta-50 Печериці двуспорої (*Agaricus bisporus*) по відношенню до штамів *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Arthrobacter citreus* та *Candida albicans*. В хлороформних, спиртових та ацетонових екстрактах досліджуваних грибів виявлена антимікробна дія. Найбільш виражений антимікробний вплив виявлявся проти *Staphylococcus aureus*. Водні екстракти посилювали ріст бактерій за 24-годинну експозицію. Значна більшість екстрактів практично не впливали на ріст бактерії *P. aeruginosa*, дріжджеподібного грибка *Candida albicans* та актиноміцету *Arthrobacter citreus*.
Ключові слова: антимікробна дія, глива, печериця.

Глива (*Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm., *Pleurotaceae*) — дереворуйнівні гриби, які знайшли широке застосування у харчовій промисловості [1]. В їх плодових тілах знайдено продукти основного та специфічного метаболізму: ліпіди, стероли, ліпофільні вітаміни, вітаміни групи В, моно-, оліго- та полісахариди, амінокислоти, білки, деякі ферменти, похідні аліфатичних вуглеводнів [2, 3, 4, 5, 6]. Деякі з цих речовин виявляють антивіральну [7], гіпохолестерольну [3], антимутагенну [8], протипухлинну [9], імуномодулюючу [10], гіпотензивну [11] дію. Реклама гливи як продукту стверджує, що вживання страв з цих грибів поліпшує роботу кишкового тракту людини, у тому числі за рахунок нормалізації мікробіоти. Однак, у сучасній літературі нами не знайдено повідомлень про вплив цих грибів на нормальну або патогенну мікробіоту людини. Повідомляється лише про знайдену антибіотичну активність міцелію та культуральної рідини гливи [12].

Тому метою нашої роботи було оцінити вплив екстрактів грибів *Pleurotus ostreatus* сортів Атол та Отрада, що створені у СГІ — НАЦ

© О. Л. Рахімова, В. М. Тоцький, О. В. Бабаянц, В. О. Іваниця, 2004

НАІС УААН, та *Agaricus bisporus* штаму Delta-50 (Франція) — на представників умовно-патогенної мікробіоти.

Матеріал і методи дослідження

Субстратом для вирощування грибів *P. ostreatus* слугувала подрібнена та термічно оброблена пшенична солома. Як іноклюм використовували міцелій, який вирощували без біододатків на ячмінному або пшеничному зерні з додаванням рапсу з метою збагачення азотом. Плодові тіла гливи вирощували за умов природної вентиляції при температурі 15—18 °С, освітлення — 8 годин лампами денного світла з розрахунку 5 Вт/м^2. Вологість повітря — 85—90 %, що досягалося за допомогою поливу та зрошення туманом. Для одержання соків наважки 10 г сирої біомаси попередньо промитих і продезінфікованих грибних капелюшків асептично подрібнювали механічним способом. У якості екстрагентів використовували воду, етанол, ацетон, хлороформ. Екстракцію провадили при кімнатній температурі протягом 24 годин. Екстракти, отримані за допомогою органічних розчинників, випарювали досуха, а осад розчиняли в стерильній дистильованій воді. Контролем слугувала стерильна дистильована вода. Екстракти фільтрували через ватно-марлевий фільтр і пастеризували при температурі 70 °С для знищення контамінуючих мікроорганізмів.

Для визначення впливу екстрактів грибів використовували метод дифузії в агар за допомогою ямок в агаровому гелі [13] і метод серійних розведень.

Для з'ясування впливу екстрактів, отриманих за допомогою органічних розчинників, використовували метод дифузії в агар. Моделями слугували референт-штами з колекції мікроорганизмів кафедри мікробіології, які використовуються для визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків: *Escherichia coli* АТСС 25922; *Candida albicans* АТСС 18804; *Staphylococcus aureus* АТСС 25923; *Pseudomonas aeruginosa* АТСС 27853; *Arthrobacter citreus* АТСС 11624; а також клінічний штам *S. aureus*, що має множинну стійкість до антибіотиків і був люб'язно наданий нам бактеріологічною лабораторією дитячої обласної клінічної лікарні м. Одеси.

Активність екстрактів оцінювали, вимірюючи діаметр зони відсутності чи поліпшення росту тест-штаму навколо ямки з екстрактом у порівнянні з дистильованою водою. В якості контролю для порівняння антимікробної активності використовували розчин бензилпеніциліну у концентрації 6 мкг/мл.

Облік результатів здійснювали через 24 години інкубації при 37 °С. Усі досліди провадили в п'яти повторностях.

За допомогою методу розведень досліджували водний екстракт зі свіжих грибів та грибів, що зберігалися на протязі тижня при температурі побутового холодильника. Для цього в усі пробірки, що містили по 4,5 мл екстрактів (контрольні пробірки містили 4,5 мл стерильної дистильованої води), додавали 0,5 мл суспензії 24-годинних культур

тест-мікроорганізмів *S. aureus* у концентрації 10^6 мікробних тіл у 1 мл за оптичним стандартом. Інкубацію провадили при 37 °С протягом години. Потім готували десятикратні серійні розведення, з яких відразу ж робили висів на агаризоване поживне м'ясо-пептонне середовище (МПА). По відношенню кількості колонієутворюючих одиниць (КУО) у мілілітрі суспензії з екстрактом до кількості КУО у мілілітрі контрольної суспензії, судили про вплив водних екстрактів грибів на тест-мікроорганізми. Висіви провадили у трикратній повторності.

Визначали довірчий інтервал при 95 % рівні ймовірності [14].

Результати й обговорення

Практично в усіх досліджуваних екстрактах була виявлена антимікробна дія, що відрізнялася за спектром і ступенем антимікробного впливу (табл. 1). Всі досліджені екстракти, отримані з допомогою органічних розчинників, виявляли м'яку антибактеріальну дію як проти грампозитивних бактерій (*S. aureus*) і актиноміцетів (*A. citreus*), грамнегативних (*E. coli*) бактерій, так і фунгістатичну дію проти дріжджеподібних грибків (*C. albicans*). Найбільш чутливими до грибних екстрактів виявилися штами *S. aureus* і *E. coli*. Звертає на себе увагу те, що клінічний тест-штам S. aureus менш чутливий до екстрактів, ніж референс-штам *S. aureus*. Найбільш широкий спектр та ступінь антибактеріальної дії мав сорт гливи Атол. Органічні екстракти викликали появу найбільших зон відсутності росту тест-штамів, а водний екстракт виявляв антибактеріальну дію проти штаму *P. aeruginosa*, що є стійким до інших екстрактів.

Як видно з табл. 1, водні екстракти за період експозиції виявляли переважно стимулюючий вплив на ріст бактерій. Цей факт є загальновідомим для різних видів печериці, тому екстракти з цих грибів дуже часто використовують як компоненти поживних середовищ для гетеротрофних мікроорганізмів [15]. Для гливи цей феномен виявлено нами вперше.

У подальшому ми досліджували вплив водних екстрактів свіжих грибів і тих же грибів після їх тижневого зберігання у побутовому холодильнику на клінічний тест-штам *S. aureus* і референс-штам *S. aureus* (табл. 2). В цих дослідах інкубація зразків з тест-мікробом тривала лише годину.

Звертає на себе увагу різниця у прояві впливу водних екстрактів в залежності від тривалості експозиції. Якщо експозиція триває протягом години (табл. 2), то в протилежність 24-годинній експозиції (табл. 1), водні екстракти виявляють м'яку антимікробну дію по відношенню до референс-штаму. Однак на клінічний штам такої дії водні екстракти не виявляли. Найбільш активну антимікробну дію було виявлено у екстракту зі свіжих плодових тіл сорту Атол. Навіть при збереженні грибів протягом 7 днів при температурі побутового холодильника антимікробний вплив зберігається, хоч і в дещо ослабленому стані.

Таблиця 1

Вплив різних екстрактів грибів на тест-штами мікроорганізмів у вигляді зон відсутності або поліпшення росту (мм)

Екстрагуючі засоби	Гриб	Тест-штами					
		E. coli	*C. albicans*	*S. aureus*	*S. aureus Type*	*P. aeruginosa*	*A. citreus*
Ацетон	*P. ostreatus* Отрада	-2,0±0,1	0,0	-1,0±0,05	-1,0±0,02	0,0	0,0
	P. ostreatus Атол	-2,0±0,1	-1,0±0,05	-1,0±0,1	-10,0±0,2	0,0	0,0
	A. bisporus	-1,0±0,1	0,0	-1,0±0,1	-1,0±0,02	0,0	0,0
Спирт	*P. ostreatus* Отрада	0,0	0,0	-1,0±0,01	-1,0±0,01	0,0	0,0
	P. ostreatus Атол	-2,0±0,1	0,0	-1,0±0,02	-1,0±0,1	0,0	0,0
	A. bisporus	0,0	0,0	-2,0±0,01	-1,0±0,03	0,0	0,0
Хлороформ	*P. ostreatus* Отрада	0,0	0,0	-1,0±0,02	-2,0±0,02	0,0	0,0
	P. ostreatus Атол	-1,0±0,1	0,0	-1,0±0,01	-1,0±0,01	0,0	-1,0±0,01
	A. bisporus	0,0	0,0	0	-1,0±0,02	0,0	0,0
Вода	*P. ostreatus* Отрада	+5,0±0,2	0,0	+1,0±0,1	+1,0±0,1	0,0	0,0
	P. ostreatus Атол	+6,0±0,2	0,0	+18,0±0,2	+4,0±0,1	-4,0±0,1	-3,0±0,05
	A. bisporus	+3,0±0,1	+5,0±0,2	+2,0±0,1	+6,0±0,1	+6,0±0,1	+6,0±0,1
Контроль	Бензилпеніцилін	0,0	0,0	-29,0±0,9	-30,0±1,0	-20,0±1,0	0,0

Примітка: "+" — збільшення біомаси тест-штаму навколо ямки з екстрактом;
"-" — відсутність росту тест-штаму

Таблиця 2

Вплив водних екстрактів свіжих та зі збережених протягом тижня грибів на ріст досліджуваних штамів *S. aureus* (відсоток КУО у порівнянні з контролем)

Гриби	Штами *S. aureus*			
	Клінічний		АТСС 25923	
	Екстракт свіжезібраних	Екстракт збережених	Екстракт свіжезібраних	Екстракт збережених
Контроль (дист. вода)	100	100	100	100
P. ostreatus Отрада	110	130	50	51
P. ostreatus Атол	105	126	41	51
A. bisporus	176	131	70	80

Таким чином, нами виявлено антимікробний вплив екстрактів гливиі на досліджувані тест-штами. Показано, що на відміну від антибіотиків, антимікробна дія грибних екстрактів дуже м'яка, виявляється не до всіх штамів, тому ми можемо вважати цю дію нормалізуючою, а не лікувальною.

Література

1. *Chang R.* Functional properties of edible mushrooms // Nutr. Rev. — 1996. — 54. — N 11. — P. 91—93.
2. *Bautista Justo M., Alanis Guzman M. G., Gonzalez de Mejia E., Garcia Diaz C. L.* Chemical composition of three Mexican strains of mushrooms (Pleurotus ostratus) // Arch. Latinoam. Nutr. — 1998. — 48. — N 4. — P. 359—363.
3. *Opletal L.* Phytotherapeutic aspects of diseases of the circulatory system. 2. The oyster mushroom and its potential use // Cesk. Farm. — 1993. — 42. — N 4. — P. 160—166.
4. *Cohen R., Persky L., Hadar Y.* Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus Pleurotus // Appl. Microbiol. Biotechnol. — 2002. — 58. — N 5. — P. 582—594.
5. *Будняк О. К., Бабаянц О. В., Кокошкіна О. О., Запорожченко О. В., Петров С. А., Магла М. Г.* Вміст деяких біологічно активних сполук в тканинах грибів Pleurotus ostratus // Вісник Одеського національного університету. — Одеса: ОНУ, 2003. — Т. 8, Вип. 2. — С. 7—11.
6. *Tribak M., Ocampo J. A. , Garcia-Romera I.* Production of xyloglucanolytic enzymes by Trichoderma viride, Paecilomyces farinosus, Wardomyces inflatus, and Pleurotus ostreatus // Mycologia. — 2002, — V.94. — N 3. — P. 404—410.
7. *Wang H. X., Ng T. B.* Isolation of a novel ubiquitin-like protein from Pleurotus ostreatus mushroom with anti-human immunodeficiency virus, translation-inhibitory, and ribonuclease activities // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2000. — V. 276. — N 2. — P. 587—593.
8. *Filipic M.,Umek A.,Mlinaric A.* Screening of Basidiomycete mushroom extracts for antigenotoxic and bio-antimutagenic activity // Pharmazie. — 2002. — V. 57. — N 6. P. 416—420.
9. *Grube B. J., Eng E. T., Kao Y.-C., Kwon A., Chen S.* White Button Mushroom Phytochemicals Inhibit Aromatase Activity and Breast Cancer Cell Proliferation // Journal of Nutrition. — 2001. — V. 131. — P. 3288—3293.
10. *Wasser S.* Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides // Appl. Microbiol. Biotechnol. — 2002. — V. 60. — N 3. — P. 258—274.
11. *Tam S. C.,Yip K. P.,Fung K. P.,Chang S. T.* Hypotensive and renal effects of an extract of the edible mushroom Pleurotus sajor-caju // Life Sci. — 1986. — V. 38. — N 13. — P. 1155—1161.
12. *Coletto M. A. B.* Basidiomycetes in relation to antibiosis. II. Antibiotic activity of mycelia and culture liquids // J. Bacteriol. Virol. Immunol. — 1981. — V. 74. — N 7. — P. 267—74.
13. *Егоров Н. С.* Практикум по микробиологии. — 1976. — М.: МГУ. — С. 251—252.
14. *Плохинский Н. А.* Алгоритмы биометрии. — М.: МГУ, 1980. — 150 с.
15. *Prokaryotes*, 2nd edn. Balows A., Truper H.G., Dworkin M., Harder W., Schleiter K.H. (eds). New York: Springer-Verlag, 1992. — 3416 p.

Е. Л. Рахимова, В. Н. Тоцкий, О. В. Бабаянц, В. А. Иваница
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
каф. микробиологии и вирусологии, каф. генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

Селекционно-генетический интситут — Национальный центр семеноводства и сортоизучения УААН,
Овидиопольская дор., 3, Одесса, 65036, Украина

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ СЪЕДОБНЫХ ГРИБОВ НА МИКРООРГАНИЗМЫ

Резюме

Исследовали антимикробные свойства двух сортов Атолл и Отрада Вешенки обыкновенной (Pleurotus ostreatus) и штама Delta-50 Шампиньона двуспорового (Agaricus bisporus) по отношению к штаммам Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Arthrobacter citreus и Candida albicans. У хлороформных, спиртовых и ацетоновых экстрактов исследованных грибов обнаружено антимикробное действие. Наиболее выраженнное антимикробное действие виявлено против Staphylococcus aureus. Водные экстракти усиливали рост бактерий при 24 часовой экспозиции. Значительное большинство екстрактов практически не влияло на рост бактерий P. aeruginosa, дрожжеподобного грибка Candida albicans и актиномицета Arthrobacter citreus.

Ключевые слова: антимикробное действие, вешенка, шампиньон.

O. L. Rakhimova, V. M. Totskii, O. V. Babajants, V. O. Ivanitsa
Odessa National University,
Microbiology and virology department, Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya 2, Odessa 65026, Ukraine

Plant Breeding and Genetics Institute UAAS,
Ovidiopolskaya Dor. 3, Odessa, 65036 Ukraine

THE EDIBLE MUSHROOM EXTRACT INFLUENCE ON THE MICROORGANISMS

Summary

The antimicrobial properties of two grades of Pleurotus ostreatus Atoll and Pleurotus ostreatus Otrada and Agaricus bisporus against Escherichia coli Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Arthrobacter citreus and Candida albicans were studied. The antimicrobial influense was found out in chloroform, ethanol and acetone extracts. The strongest antimicrobial influence was shown against Staphylococcus aureus. The water extracts increase the bacterial growth after 24 hours exposure. The majority of extracts didn't influence .the growth of bacteria P. aeruginosa, yeast Candida albicans and actinomicete Arthrobacter citreus.

Keywords: antimicrobial influence, oyster, mushroom.

УДК 579.264

І. В. Фабіянська, асист., **Н. О. Єлинська**, канд. біол. наук, доц.
Одеський національний університет, кафедра мікробіології і вірусології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ ЛАКТОБАЦИЛ, ВИДІЛЕНИХ ІЗ КИШЕЧНИКА ДІТЕЙ

Досліджували антагоністичну активність штамів лактобацил. Встановлено, що більшість досліджених штамів проявляли слабко або середньо виражену антагоністичну активність по відношенню до умовно-патогенних, сапрофітних бактерій та дріжджеподібних грибів. Виявлено, що домінуючу роль у пригніченні росту індикаторних мікрорганізмів відіграє молочна кислота, яка продукується ізольованими штамами лактобацил.
Ключові слова: лактобацили, антагоністична активність.

Останнім часом широким фронтом провадяться роботи по створенню біологічно активних препаратів для корекції мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту людини [1, 2]. При розробці біопрепаратів для профілактики шлунково-кишкових захворювань велике значення має підбір активних штамів бактерій, здатних пригнічувати розвиток патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів та відновлювати нормальну мікробіоту кишечника [3, 4, 5].

Актуальним є створення пробіотичних препаратів на основі індигенних мікроорганізмів, які в нормі зустрічаються в шлунково-кишковому тракті здорового організму. Однак, стандарти нормальної мікробіоти для мешканців різних регіонів з різноманітною дієтою варіюють. Пробіотичні препарати, до яких входять штами бактерій, ізольованих із вмісту шлунково-кишкового тракту людей, які мешкають у даній місцевості, на нашу думку, мають виявляти більш виразний терапевтичний ефект, ніж колекційні штами і штами, вилучені в інших регіонах. Тому, на наш погляд, пошук антагоністично-активних культур має проводитися серед штамів, характерних для даної екологічної ніші.

Метою даної роботи було вивчення антагоністичної активності штамів бактерій роду *Lactobacillus*, виділених із кишечника дітей — мешканців м. Одеси, по відношенню до умовно-патогенних і сапрофітних бактерій, а також дріжджеподібних грибів.

Матеріал та методи дослідження

Матеріалом дослідження слугували 67 штамів лактобацил, виділених із шлунково-кишкового тракту дітей і колекційний штам *L. fermentum* ATCC 14931. Штами молочнокислих бактерій вирощували на середовищі MRS [6], індикаторні штами умовно-патогенних і сапрофітних бактерій — на МПА [7], індикаторні штами дріжджепо-

© І. В. Фабіянська, Н. О. Єлинська, 2004

дібних грибів — на середовищі Сабуро [7]. Антагоністичну активність лактобацил визначали методом агарових блоків і оцінювали в міліметрах [8]. Для з'ясування природи антагоністичної дії використовували дві модифікації досліду: 1 — в середовище MRS для нейтралізації дії молочної кислоти додавали карбонат кальцію в концентрації 25 мг/мл; 2 — для інактивації перекису водню в середовище MRS вносили каталазу в кінцевій концентрації 1 мг/мл.

Індикаторними мікроорганізмами слугували 6 колекційних штамів умовно-патогенних і сапрофітних бактерій: *Escherichia coli УКМ В-906, Bacillus subtilis ОГУ-24, Pseudomonas aeruginosa ОГУ-211, Proteus vulgaris УКМ В-905, Staphylococcus aureus ОГУ-223, Micrococcus luteus УКМ АС-645*^{T}, а також 6 колекційних штамів дріжджеподібних грибів: *Rhodotorula bogoriensis УКМ У-50*^{T}, *Saccharomyces cerevisiae УКМ У-497, Candida utilis УКМ У-1597*^{T}, *Candida albicans УКМ У-2501*^{T}, *Cryptococcus neoformans, Nocardia asteroides УКМ У-405*^{T}.

Результати досліджень

За вивчення антагоністичної активності штамів лактобацил, ізольованих із вмісту кишечника дітей, встановлено, що досліджені штами володіють слабко або середньо вираженими антагоністичними властивостями по відношенню до індикаторних мікроорганізмів. Було виявлено, що по відношенню до таких умовно-патогенних мікроорганізміів як *E. coli* і *B. subtilis* більшість виділених штамів молочнокислих бактерій антагоністичну активність не проявляли або проявляли дуже слабко (табл. 1).

Відсутність антагоністичної активності по відношенню до кишкової палички можна розцінювати як позитивний факт. Є підстави вважати, що використання в подальшому досліджуваних штамів бактерій роду *Lactobacillus* як основи пробіотичних препаратів не буде супроводжуватися порушенням складу нормальної мікробіоти кишечника.

Приблизно 50 % штамів бактерій роду *Lactobacillus* пригнічували ріст *P. aeruginosa, P. vulgaris, S. aureus*, проте діаметри затримки росту індикаторних культур були менші 10 мм. Тільки для трьох штамів лактобацил виявлено середній рівень антагоністичної активності по відношенню до *P. vulgaris*, для одного — по відношенню до *P. aeruginosa*.

По відношенню до *M. luteus*, представнику нормальної мікробіоти шкірних покривів людини, 27,7% досліджуваних штамів лактобацил проявили низький, 21,5% — середній і 6,0% — високий рівень антагоністичної активності.

В даних дослідженнях показано, що у порівнянні з умовно-патогенними і сапрофітними бактеріями, штами лактобацил проявили більшу антагоністичну активність по відношенню до індикаторних штамів дріжджеподібних грибів.

Виявилося, що штами лактобацил проявили слабку антагоністичну дію відносно штамів *R. bogoriensis, C. utilis, C. albicans*; слабку, середню

та високу — відносно штамів *S. cerevisiae і C. neoformans*; середню і високу — відносно штаму *N. asteroides.*

Таблиця 1

Антагоністична активність бактерій роду *Lactobacillus*

Індикаторний мікроорганізм	Антагоністична активність					
	Слабка (<10 мм)[1]		Середня (10-20 мм)		Висока (>20 мм)	
	абс	%	абс	%	абс	%
Escherichia coli	11[2]	16,9	0	0	0	0
Pseudomonas aeruginosa	33	50,8	0	0	1	1,5
Proteus vulgaris	41	63,1	3	4,6	0	0
Bacillus subtilis	7	10,8	0	0	0	0
Staphylococcus aureus	30	46,2	0	0	0	0
Micrococcus luteus	18	27,7	14	21,5	4	6,0
Nocardia asteroides	28	43,1	23	35,4	2	3,1
Rhodotorula bogoriensis	9	13,8	1	1,5	0	0
Saccharomyces cerevisiae	8	12,3	6	9,2	8	12,3
Candida utilis	11	16,9	0	0	1	1,5
Candida albicans	8	12,3	5	7,7	1	1,5
Cryptococcus neoformans	14	21,5	3	4,6	2	3,1

Примітки: 1 — діаметр зони затримки росту індикаторного мікрорганізму
2 — кількість штамів, які пригнічували ріст індикаторного мікроорганізму

Було встановлено, що найбільшу антагоністичну активність відносно використаних умовно-патогенних мікроорганізмів виявили такі штами, як: *L. viridescens 15, L. kefir 289, L. casei s/sp tolerans 290, L. acidophilus 291, L. delbrueckii s/sp bulgaricus 432, L. delbrueckii s/sp bulgaricus 444, L. curvatus 904, L. delbrueckii s/sp lactis 918, L. delbrueckii s/sp lactis 921, L. plantarum 991, L. delbrueckii s/sp bulgaricus 823, L. fermentum ATCC 14931* (табл. 2).

Антагоністична активність лактобацил обумовлена дією різних речовин, які синтезуються бактеріями, а також продуктами метаболізму, таких як молочна кислота, перекис водню, лізоцим, антибактеріальні сполуки, бактеріоцини [8, 9, 10].

Для встановлення природи антагоністичної активності досліджуваних бактерій, була проведена модифікація досліду з додаванням в середовище культивування каталази для нейтралізації дії перекису водню, що продукується лактобацилами і з карбонатом кальцію для нейтралізації дії основного метаболіту лактобацил — молочної кислоти. На підставі отриманих даних, можна зробити висновок, що при проведенні експерименту з каталазою, показники антагоністичної активності вилучених штамів знизились не значно, що свідчить про не стільки важливу роль перекису водню в пригніченні мікробіоти, з якої конкурують лактобацили (табл. 3).

Таблиця 2

Пригнічення росту індикаторних мікрорганізмів окремими штамами лактобацил у стандартних умовах

Штам	Діаметр зони затримки росту індикаторних мікрорганізмів, мм											
	E. coli	*B. subtilis*	*P.aeruginosa*	*P. vulgaris*	*S. aureus*	*M. luteus*	*R. bogoriensis*	*S. cerevisiae*	*C. utilis*	*C. albicans*	*C. neoformans*	*N. asteroides*
L. viridescens 15	0	0	6	6	0	>20	2	3	0	3	11	10
L. kefir 289	0	0	0	0	3	0	0	>20	2	20	17	9
L. casei s/sp tolerans 290	0	1	>20	9	0	2	3	>20	2	20	9	10
L.acidophilus 291	0	0	7	6	2	>20	0	2	1	0	3	4
L. delbrueckii s/sp bulgaricus 432	0	0	0	6	0	0	17	>20	>20	>20	>20	19
L. delbrueckii s/sp bulgaricus 444	0	0	4	0	0	>20	3	>20	7	0	5	12
L. curvatus 904	1	0	4	8	0	>20	0	16	3	2	1	16
L. delbrueckii s/sp lactis 918	0	0	5	5	1	0	0	>20	0	11	3	>20
L. delbrueckii s/sp lactis 921	0	0	4	7	0	8	0	2	3	1	4	>20
L. plantarum 991	0	0	1	4	0	8	0	>20	0	3	4	20
L. delbrueckii s/sp bulgaricus 823	4	0	7	5	5	11	0	>20	1	2	2	10
L. fermentum ATCC 14931	0	0	3	0	0	12	0	0	0	4	>20	19

Таблиця 3

Пригнічення росту індикаторних мікроорганізмів окремими штамами лактобацил у досліді з додаванням каталази та карбонату кальцію

Штам	*E.coli*	*B.subtilis*	*P.aeruginosa*	*P.vulgaris*	*S.aureus*	*M.luteus*	*R.bogoriensis*	*S.cerevisiae*	*C.utilis*	*C.albicans*	*C.neoformans*	*N.asteroides*
L. viridescens 15	0/0	0/0	0/4	0/0	0/0	0/11	0/1	0/3	0/0	0/3	0/1	3/1
L. kefir 289	0/0	0/0	0/0	0/0	0/2	0/0	0/0	0/19	0/1	0/19	0/15	0/7
L. casei s/sp tolerans 290	0/0	0/0	0/20	0/8	0/0	0/1	0/3	0/>20	0/1	0/20	0/9	0/9
L. acidophilus 291	0/0	0/0	0/5	0/5	0/2	0/>20	0/0	0/1	0/1	0/0	0/3	0/4
L. delbrueckii s/sp bulgaricus 432	0/0	0/0	0/0	0/6	0/0	0/0	0/17	0/>20	0/>20	0/>20	0/>20	0/17
L. delbrueckii s/sp bulgaricus 444	0/0	0/0	0/2	0/0	0/0	0/19	0/1	0/>20	0/7	0/0	0/4	0/12
L. curvatus 904	0/1	0/0	0/2	0/6	0/0	0/>20	0/0	0/16	0/2	0/2	0/1	0/15
L. delbrueckii s.sp lactis 918	0/0	0/0	0/5	0/4	0/1	0/0	0/0	0/>20	0/0	0/11	0/3	0/20
L. delbrueckii s.sp lactis 921	0/0	0/0	0/3	0/7	0/0	0/8	0/0	0/1	0/3	0/1	0/4	0/20
L. plantarum 991	0/0	0/0	0/1	0/3	0/0	0/8	0/0	0/19	0/0	0/3	0/3	0/18
L. delbrueckii s.sp bulgaricus 823	0/4	0/0	0/6	0/5	0/4	0/9	0/0	0/>20	0/1	0/1	0/2	0/10
L. fermentum ATCC 14931	0/0	0/0	0/2	0/0	0/0	0/12	0/0	0/0	0/0	0/4	0/>20	0/16

Примітки: перша цифра — діаметр зони затримки росту при додаванні каталази, мм;
друга цифра — діаметр зони затримки росту при додаванні карбонату кальцію, мм

Під час досліду з карбонатом кальцію, доданому у середовище для нейтралізації дії молочної кислоти, зони затримки росту спостерігались тільки відносно представника актиноміцетів — *N. asteroides* у п'яти штамів лактобацил, до того ж, зони затримки росту не перевишували 10 мм, тобто спостерігався слабкий ступінь антагоністичної активності, що свідчить про те, що більшість штамів бактерій роду *Lactobacillus* не продукують речовини з бактеріоцидною дією (табл. 3).

Таким чином, встановлено природу антагоністичної активності бактерій роду *Lactobacillus*. Виявилося, що молочна кислота та інші органічні кислоти, які продукуються молочнокислими бактеріями і знижують pH середовища, відіграють домінуючу роль у пригніченні росту умовно-патогенних і дріжджеподібних грибів; щодо перекису водню та бактеріоцидних сполук, то їх роль у пригніченні росту мікроорганізмів-конкурентів лактобацил є незначною, що підтверджується даними літератури [9, 10].

Висновки

1. Антагоністичну активність штамів бактерій роду *Lactobacillus*, вилучених з вмісту шлунково-кишкового тракту дітей — мешканців міста Одеси, по відношенню до штамів умовно-патогених і сапрофітних бактерій, а також дріжджеподібних грибів оцінено як слабку або середню.
2. Домінуючу роль в прігніченні росту індикаторних мікроорганізмів відіграє молочна та інші органічні кислоти, що продукуються штамами лактобацил.

Література

1. *Беляев В. И.* Пути усовершенствования препаратов, нормализующих микрофлору кишечника //Аутофлора человека в норме и патологии и ее коррекция: Респ. Сб. научных трудов./ Под ред. И. Н. Блохиной, К. Я. Соколовой — Горький: Мед. ин-т, 1998. — С. 74—85.
2. *Коршунов В. М.* Проблемы регуляции микрофлоры кишечника // ЖМЭИ. — 1995. — № 3. — С. 48—55.
3. *Бондаренко В. М., Рубакова Э. И., Лаврова В. А.* Иммуностимумулирующее действие лактобацилл, используемых в качестве препаратов-пробиотиков // ЖМЭИ. — 1998. — № 5 — С. 107—112.
4. *Гриневич А. Г.* Молочнокислые бактерии. Селекция промышленных штаммов. — М.: Высшая школа, 1981. — 164 с.
5. *Карпунина Т. И., Горовиц Э. С., Чиненкова А. Н.* Повышение эффективности терапевтического действия пробиотиков // ЖМЭИ. — 1998. — № 2. — С. 104—107.
6. *Kandler Otto, Weiss Norbert.* Section 14. Regular, nonsporing Gram-positive rods. / Bergey's manual of systematic bacteriology. Ed. I. T. Staley et al., V. 1 — Baltimore: Williams and Wilkins Co., 1989. — P. 1208—1234.
7. *Справочник* по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М. О. Бюргера — М.: Медицина, 1982. — С. 72—84.
8. *Tagg J. R., Dajani A. S., Wannamaker L. W.* Bacteriocins of Gram-positive bacteria // Bact. Rev. — 1976. — V. 40. — P. 722—756.

9. *Бажанов Л. Г., Бондаренко В. М., Лыкова Е. А., Огай Д. К.* Изучение антагонистического действия лактобацилл на Helicobacter pylori // ЖМЭИ. — 1997. — № 3. — С. 89—92.
10. *Донцова Т. А., Швець Г. В., Іваниця В. О.* Антагоністичні властивості бактерій роду Lactobacillus // Вісник Одеського державного університету. — 2000. — Т. 5, Вип. 1. — С. 235—240.

И. В. Фабиянская, Н. А. Елинская
Одесский национальный университет,
кафедра микробиологии и вирусологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ШТАММОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КИШЕЧНИКА ДЕТЕЙ

Резюме

Изучена антагонистическая активность штаммов лактобацилл. Определено, что исследованные штаммы проявляют слабо или средне выраженные антагонистические свойства по отношению к условно-патогенным, сапрофитным бактериям и дрожжеподобным грибам. Выявлено, что доминирующую роль в угнетении роста индикаторных микроорганизмов играет молочная кислота, продуцируемая изолированными штаммами лактобацилл.

Ключевые слова: лактобациллы, антагонистическая активность.

I. V. Fabiyanska, N. O. Yelinska
Odessa National I. I.Mechnikov University,
Department of Microbiology and Virology,
Dvoryanska St., 2, Odesa, 65026, Ukraine

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF LACTOBACILLI STRAINS ISOLATED FROM CHILDREN INTESTINE

Summary

It has been studied the antagonistic activity of lactobacilli strains. It has been determined that investigated strains have low or moderate antagonistic properties to facultative-pathogenic, saprophytic bacteria and yeastlike fungi. Found out that lactic acid producing by isolated lactobacilli strains play predominate role in growth decreasing of microorganism-indicators.

Keywords: lactobacilli, antagonistic activity.

УДК 579.825.11:579.842.11:576.52:579.264

І. Г. Царук'янова [1], асп., **І. Б. Сорокулова** [1], ст. наук. співроб.,
А. І. Осадча [1], ст. наук. співр., **Н. О. Єлинська** [2], доц.
[1] Інститут мікробіології і вірусології НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна

[2] Одеський національний університет ім. І. І. Мечнікова,
кафедра мікробіології і вірусології,
Шампанський пров., 2, Одеса, 65058, Україна

АНТАГОНІСТИЧНІ ТА АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ПРОБІОТИЧНИХ ШТАМІВ БАКТЕРІЙ

Штами *Bacillus subtilis* УКМВ-5007 і *Escherichia coli* М 17 є перспективними для створення комплексного пробіотика. Вивчали антагоністичну та адгезивну властивісті досліджуваних штамів, а також їх асоціативної культури, в залежності від умов культивування.
Ключові слова: *Bacillus subtilis* УКМВ-5007, *Escherichia coli* М 17, адгезія, антагоністична активність.

Значне погіршення екологічної обстановки, збільшення стресових ситуацій, а також масове використання хіміотерапевтичних препаратів — ось фактори, що негативно впливають на склад нормобіоти людини, викликаючи тим самим дисбіоз шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Одним з ефективних засобів для ліквідації цих порушень і покращення травлення є біотерапія за допомогою пробіотиків.

Пробіотики — препарати, виготовлені з живих мікробних культур, представників резидентної або транзиторної мікробіоти. Основні механізми захисту макроорганізму від колонізації патогенними і умовно-патогенними видами мікроорганізмів, що здійснюються представниками нормобіоти, це конкуренція за специфічні місця зв'язування з рецепторами епітеліальних клітин та виражений антагонізм, направлений проти патогенів [1, 2, 3]. Саме тому одними з найважливіших характеристик штамів при відборі їх з метою використання для отримання біопрепаратів є антагоністична та адгезивна властивості.

Метою роботи було виявлення оптимального співвідношення клітин штамів *B. subtilis* і *E. coli* для прояву високої антагоністичної активності по відношенню до тест-культур патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, а також дослідження адгезивних властивостей цих штамів в моно- та асоціативній культурі за різних умов культивування.

Матеріали і методи дослідження

Роботу провадили на базі Державного науково-дослідного інституту стандартизації і контролю медичних біологічних препаратів імені

© І. Г. Царук'янова, І. Б. Сорокулова,
А. І. Осадча, Н. О. Єлинська

Л. А. Тарасевича Міністерства охорони здоров'я Російської Федерації та Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України. Об'єктами дослідів були штами *B. subtilis* УКМ В-5007 і *E. coli* М 17 — складові препаратів біоспорину і колібактерину, що використовуються для профілактики і лікування дисбіозів шлунково-кишкового тракту [5].

Штами бактерій вирощували на тужавому поживному середовищі, змивали забуференим фізіологічним розчином, готували суспензії клітин з концентрацією 0,5Ч109 кл/мл та змішували у співвідношеннях 1:1, 1:2, 1:4, 2:1, 4:1.

Антагоністичні властивості штамів бактерій та їх асоціативних культур по відношенню до тест-культур *Staphylococcus aureus* 209, *E. coli* 028, *Candida albicans* 690, *Salmonella typhimurium* 11, *Proteus vulgaris* U-8, *Citrobacter sp.* D 28, *Serratia sp.* D 52, *Pseudomonas aeroginosa* 4141, *Staphylococcus aureus* D 7, *Streptococcus faecium* D 48, *Enterobacter sp.* D 7, *E. coli* ATCC 25922, *Shigella flexneri* 36/59, *Klebsiella oxytoca* D 45, *Candida albicans* D 69 досліджували за допомогою методу відстроченого антагонізму [6]. Всі вище перераховані штами були виділені від дітей, страждаючих на дисбіоз ШКТ. Отримані дані порівнювали з контролем — зонами затримки росту в мм тих самих тест-культур окремими штамами *E. coli* і *B. subtilis*.

Вивчення адгезивних властивостей штамів мікроорганізмів та їх асоціації у співвідношенні 1:1 здійснювали на моделі клітин макроорганізму — формалінізованих еритроцитах крові людини 0/1 групи Rh(+). Для глибинного культивування використовували синтетичне середовище М-9 [7]. Залежно від поставлених цілей досліду отримані суспензії відмивали або не відмивали від метаболітів за допомогою центрифугування і змішували з еритроцитами крові у співвідношенні 1:1. Для оцінки адгезивних властивостей мікроорганізмів використовували середній показник адгезії (СПА), який вираховували за середнім числом мікроорганізмів на поверхні одного еритроцита. Підраховували еритроцити в п'яти полях зору [8].

Із всієї кількості підрахованих еритроцитів визначали відсоток клітин, що несли на своїй поверхні клітини бактерій (коефіцієнт К).

Використовуючи значення СПА і коефіцієнта К, підраховували індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ) за такою формулою:

$$\text{ІАМ} = \frac{\text{СПА} \cdot 100\%}{\text{К}},$$

Згідно даних В. І. Бріліса та співавт. [9], мікроорганізми вважали неадгезивними при ІАМ < 1,75, низькоадгезивними при ІАМ від 1,76 до 2,5, середньоадгезивними — від 2,51 до 4,0 і високоадгезивними при ІАМ > 4 [8].

Статистичну обробку отриманих результатів з обчисленням середніх арифметичних даних, їх довірчих інтервалів та ступеня вірогідності провадили за допомогою комп'ютерної програми MS Excell 7.0.

Результати дослідження

Відомо, що бактерії роду *Bacillus* характеризуються високою антагоністичною активністю завдяки антибіотичним сполукам, що продукують, здатні пригнічувати патогенну мікробіоту, яка викликає дисбіоз ШКТ [5]. В наших експериментах при порівнянні значень цього важливого показника досліджуваного штаму *B. subtilis* УКМВ-5007 зі штамом *E. coli* М 17 видно, що культура бацил дійсно характеризується більш вираженим антагонізмом до обраних тест-культур (табл. 1).

Таблиця 1

Прояв антагоністичної активності штамами *Bacillus subtilis* УКМВ- 5007 і *Escherichia coli* М 17 до умовно патогенних та патогенних тест-культур мікроорганізмів

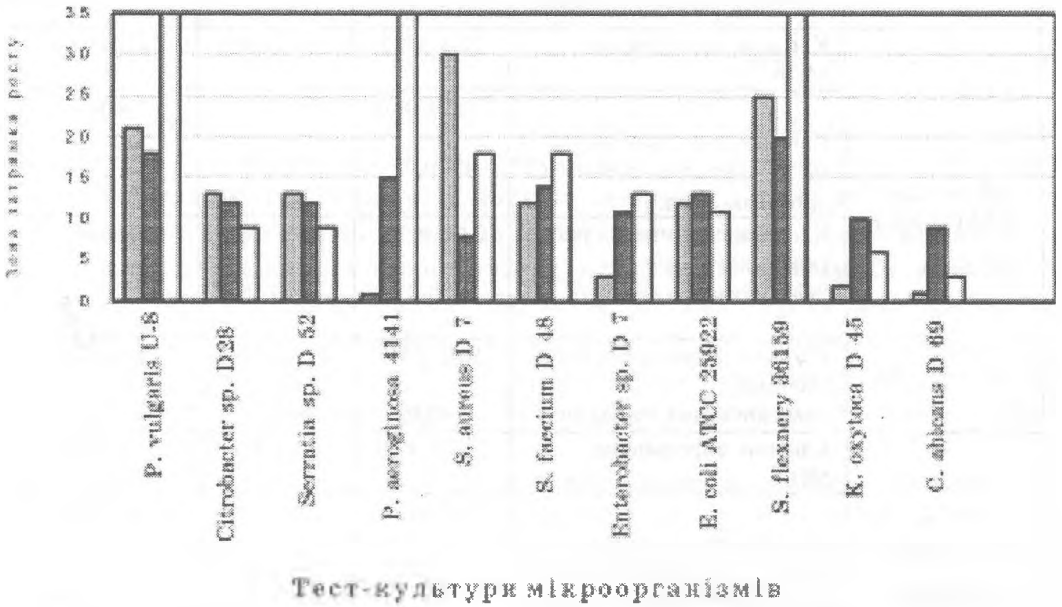
Співвідношення *B.subtilis:E.coli*	Зона затримки росту тест-культур, мм (M ± m)			
	Salmonella typhimurium 11	*Staphylococcus aureus* 209	*Escherichia coli* 028	*Candida albicans* 690
1 : 1	12,2 ± 1,8	23,8 ± 2,7	19,2 ± 2,4	23,1 ± 1,8
1 : 2	10,1 ± 1,4	20,1 ± 1,4	16,3 ± 2,1	23,3 ± 1,9
1 : 4	9,3 ± 1,0	14,7 ± 1,4	14,4 ± 1,4	18,5 ± 1,4
2 : 1	12,5 ± 1,9	21,3 ± 1,4	17,8 ± 1,6	21,7 ± 1,5
4 : 1	15,4 ± 1,5	23,6 ± 2,1	19,1 ± 1.5	24,1 ± 2,5
B. subtilis (контроль)	9,5 ± 1,3	22,2 ± 1,5	16,2 ± 1,1	21,2 ± 2,3
E. coli (контроль)	6,1 ± 0,5	5,0 ± 0,4	5,3 ± 0,4	0,0 ± 0,0

Зони затримки росту всіх досліджуваних тест-культур чистою культурою бацил значно перевищували аналогічні дані для *E. coli*. До культури *C. albicans* 690 кишкова паличка взагалі не проявляла активності. Антагоністична активність штамів *B. subtilis* УКМВ-5007 та *E. coli* М 17 при їх використанні в асоціативній культурі зберігалась при всіх застосованих співвідношеннях клітих цих штамів. Крім цього, у змішаній культурі зона затримки росту тест-культур у порівнянні до контролю *B. subtilis* зросла на 2—3 мм, а *E. coli* — на 6—15 мм. При збільшенні вмісту клітин бацил в змішаній культурі (співвідношення 2 : 1 і 4 : 1) зона затримки росту тест-культур в порівнянні зі співвідношенням 1 : 1 суттєво не змінювалась, а при збільшенні вмісту клітин *E. coli* (співвідношення 1 : 2, 1 : 4) ця зона зменшувалась. Таким чином, можна зробити висновок, що *B. subtilis* і *E. coli* в асоціативній культурі характеризувались більш високою антагоністичною активністю, ніж окремі культури тих самих штамів. Для подальшого підтвердження одержаних результатів щодо активності відібраного співвідношення 1 : 1 було використано більш розширений спектр тест-культур.

З рисунка 1 видно, що культура бацил проявляла більшу, ніж кишкова паличка, антагоністичну активність до штамів *P. vulgaris* U-8, *Citrobacter sp.* D 28, *Serratia sp.* D 52, *S. aureus* D 7, *Enterobacter sp.* D 7, S. *flexneri* 36/59. Кишкова паличка виявилась більш активною до культур *P. aeroginosa* 4141, *S. faecium* D 48, *Enterobacter sp.* D 7, *E. coli* ATCC 25922, *K. oxytoca* D 45, *C. albicans* D 69.

У п'яти випадках з 11 антагоністична активність асоціативної культури значно перевищувала активність штамів у монокультурі. У випадку з *S. aureus* D 7 активність асоціативної культури була менша за таку у бацил, але більша, ніж у кишкової палички. По відношенню до *K. oxytoca* D 45 і *C. albicans* D 69 активність асоціативної культури була вища за таку у бацил, але нижча ніж в *E. coli*. В інших випадках показники антагоністичної активності бактерій в асоціативній культурі були на 2—4 мм нижчі, ніж у монокультурі.

Виходячи з поставленої мети створення комплексного препарату — пробіотику, наступною, не менш важливою частиною роботи була перевірка здатності досліджуваних штамів до адгезії як в моно-, так і в асоціативній культурі. В ході проведених досліджень було виявлено, що для бацил був характерним нульовий (ІАМ 1,3 ± 0,03, К 22,3 ± 3,1), а для кишкової палички — середній ступінь адгезії (ІАМ 3,4 ± 0,4, К 71,3 ± 12,7). Отримані дані узгоджуються з літературними [4, 5, 9].



B. subtilis УКМВ-5007
E. coli М 17
B. subtilis УКМВ-5007+ *E. coli* М 17 (1:1)

Рис. 1. Антагоністична активність штамів *Bacillus subtilis* УКМВ-5007 і *Escherichia coli* М-17 по відношенню до патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів

При зміні умов культивування показники ІАМ для обох штамів коливались незначно (табл. 2). Так, для добової культури *B. subtilis*, вирощеної в умовах глибинного культивування і відмитої від продуктів метаболізму, ІАМ дорівнював 1,4 ± 0,09; при цьому в процесі адгезії приймало участь 31,6 ± 5,3 % клітин крові. При інкубуванні з еритроцитами крові клітин, не відмитих від продуктів метаболізму, показник ІАМ практично не змінювався і складав 1,3 ± 0,19, але кількість клітин, що брали участь у процесі адгезії, значно зменшувалася — до 20,2 ± 4,5 %.

Показники ІАМ і К для клітин штаму *E. coli*, вирощених в глибинних умовах культивування і відмитих від продуктів метаболізму, складали 3,2 ± 0,8 і 72,9 ± 20,7 %. Однак, для культури, клітини якої не були відмиті від метаболітів, адгезивні властивості знижувалися до 2,5 ± 0,6 і 69,0 ± 10,2 % відповідно. При прогріванні клітин показники адгезії змінювалися несуттєво.

Таблиця 2

Показники адгезивної активності досліджуваних штамів *Bacillus subtilis* і *Escherichia coli* на моделі еритроцитів крові людини за різних умов культивування

Штам	Умови отримання добової культури клітин бактерій	К (M ± m),%	ІАМ (M ± m)	Ступінь адгезивності
B. subtilis УКМ В 5007	Клітини, вирощені на МПА	22,3 ± 3,1	1,3 ± 0,03	*нульова*
	Клітини, вирощені на МПА та прогріті при 60 °С протягом 1 год.	73,0 ± 9,04 P< 0,01	2,0 ± 0,4 P=0,95	*низька*
	Клітини, отримані за умов глибинного культивування, відмиті	31,6 ± 5,3 P=0,87	1,4 ± 0,09 P=0,55	*нульова*
	Клітини, отримані за умов глибинного культивування, не відмиті	20,2 ± 4,5 P=0,08	1,3 ± 0,19 P=0,13	*нульова*
E. coli M17	Клітини, вирощені на МПА	71,3 ± 12,7	3,4 ± 0,4	*середня*
	Клітини, вирощені на МПА та прогріті при 60 °С протягом 1 год.	94,9 ± 0,7 P=0,94	3,6 ± 0,09 P=0,42	*середня*
	Клітини, отримані за умов глибинного культивування, відмиті	72,9 ± 20,7 P=0,06	3,2 ± 0.8 P=0,14	*середня*
	Клітини, отримані за умов глибинного культивування, не відмиті	68,7 ± 10,2 P=0,13	2,5 ± 0,6 P=0,77	*середня*

Таким чином, з отриманих результатів видно, що умови культивування практично не впливали на показники адгезії штамів бактерій, в той час як продукти метаболізму штаму *E. coli* значно подавляли його здатність до адгезії, можливо, за рахунок того, що екранували специфічні адгезини досліджуваного штаму. Для кишкової палички характерна наявність таких структур, що зв'язуються з рецепторами епітеліальних клітин. Вони поділені на декілька типів і значно відрізняються за складом у патогенних и непатогенних ешеріхій. Очевидно, саме їх наявність дозволяє кишковій паличці проявляти високу адгезивну активність і успішно конкурувати з патогенними видами ентеробактерій за місця з'язування [2, 10].

Для штаму *B. subtilis* такої залежності не було виявлено, але показники ІАМ і К для клітин бацил, що були прогріті перед інкубуванням при високих значеннях температур, були значно вищі показників, отриманих за інших умов. У цьому випадку в суспензії відсутні живі клітини, тому можна припустити, что адгезивність штаму залежить від наявності в суспензії специфічних речовин, які й обумовлюють прикріплення клітин. На користь цього припущення свідчать дані, що є в літературі. Відомо, що для бацил характерна наявність значної кількості вуглеводних рецепторів, які можуть забезпечувати прикріплення до клітин макроорганізму [11].

В наших експериментах при інкубуванні суміші клітин бактерій з еритроцитами досліджувані штами активували значно більшу кількість клітин крові. Крім того, специфічні адгезини *E. coli*, що знаходились в метаболітах, були здатні стимулювати адгезивність бацил, тоді як метаболіти штаму *B. subtilis*, навпаки, інгібували адгезивність культури *E. coli*. Було показано, що при додаванні клітин кишкової палички до суміші еритроцитів з клітинами штаму *B. subtilis*, що була попередньо інкубована протягом 40 хв., показники адгезії для бацил не змінювалися. При додаванні до суміші клітин штаму *E. coli* і еритроцитів, що також була преінкубована протягом 40 хв., клітин і метаболітів бацил адгезивні властивості кишкової палички зменшувалися (табл. 3).

Підсумовуючи одержані результати, можна зробити висновок, що досліджувані штами бактерій доповнюють один одного за спектром антагоністичної активності і мають принципово різні механізми дії на організм людини та тварини. Показано, що досліджуваний штам *E. coli* М 17 мав середній ступінь адгезивності, в той час як *B. subtilis* УКМВ-5007, навпаки, — дуже низький, близький до нульового, ступінь по відношенню до клітин крові людини. При створенні змішаної культури досліджуваних штамів бактерій індекси адгезивності дещо знижувались, але значно збільшувалась кількість клітин, які приймали участь у процесі адгезії.

Таблиця 3

Показники адгезивної активності за різних умов інкубування змішаної культури штамів *Bacillus subtilis* і *Escherichia coli* з еритроцитами крові людини

Штам	Умови інкубування клітин бактерій з еритроцитами крові людини	К (M ± m), %	ІАМ (M ± m)	Ступінь адгезивності
B.subtilis УКМВ 5007	Клітини *B. subtilis* з метаболітами штаму *E. coli*	56,2 ± 2,1 P < 0,01	1,8 ± 0,05 P < 0,01	*низька*
	Клітини *B. subtilis* з додаванням суспензії клітин *E. coli* після 40 хв. інкубування	62,2 ± 12,8 P = 0,99	1,4 ± 0,4 P = 0,23	*нульова*
	Клітини *E. coli* з додаванням суспензії клітин *B. subtilis* після 40 хв. інкубування	35,4 ± 15,1 P = 0,61	1,4 ± 0,1 P = 0,4	*нульова*
E. coli M 17	Клітини *E. coli* з метаболітами *B. subtilis*	78,0 ± 6,4 P = 0,38	2,6 ± 0,3 P = 0,88	*середня*
	Клітини *B. subtilis* з додаванням суспензії клітин *E. coli* після 40 хв. інкубування	72,8 ± 6,1 P = 0,08	2,7 ± 0,2 P = 0,89	*середня*
	Клітини *E. coli* з додаванням суспензії клітин *B. subtilis* після 40 хв. інкубування	78,9 ± 5,5 P = 0,42	3,1 ± 0,4 P = 0,36	*середня*

Все це дає можливість припустити, що комплексний препарат — пробіотик, створюваний на основі досліджуваних штамів бактерій, буде мати більш виражений ефект, ніж кожен з препаратів зокрема. Вивчені нами властивості дозволять живим мікробним культурам, що складуть основу препарату, проявляти активність в різних відділах ШКТ, не перешкоджаючи його заселенню нормальною мікробіотою і подавляючи при цьому патогенні мікроорганізми, здатні викликати дисбіоз ШКТ.

Висновки

1. Штами *B. subtilis* УКМ В 5007 та *E. coli* M 17 проявляють високий рівень антагоністичної активності в асоціативній культурі у співвідношенні 1: 1, яка у 73 % випадків значно перевищувала активність окремих культур по відношенню до умовно-патогенних мікроорганізмів.
2. Штам *B. subtilis* УКМВ 5007 характеризувався низьким рівнем адгезивної активності, штам *E. coli* M 17 та асоціативна культура, створена з цих штамів, характеризувались середнім рівнем адгезивної активності.

Література

1. *Далин М. В., Фиш Н. Г.* Адгезины микроорганизмов // Итоги науки и техники. — 1985. — Т. 16, № 8. — С. 84—103.
2. *Перетц Л. Г.* Значение нормальной микрофлоры для организма человека. — М.: Медицина, 1955. — 435 с.
3. *Gibson G. R., Fuller R.* Aspects of In Vitro and In Vivo research approaches directed toward identifying probiotic and prebiotic for human use // J. of nutrition. — 2000. — Vol. 130(2S supl.). — P. 391—395.
4. *Осипова И. Г.* Некоторые аспекты механизма защитного действия колибактерина и споровых эубиотиков и новые методы их контроля: Автореф. Дис. ... канд. биол. наук. — М., 1997. — 25 с.
5. *А. с.* 1722502А1 СССР, МКИ А61К39174. Препарат биоспорин для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний / Смирнов В. В., Резник С. Р., Сорокулова И. Б. и др. — Опубл. 30.03.92. Биол. № 12.
6. *Егоров Н. С.* Выделение микробов — антагонистов и биологические методы учета их антибиотической активности. — М.: МГУ, 1956. — 78 с.
7. *Миллер Д.* Эксперименты в молекулярной генетике. — М.: Мир, 1976. — 198 с.
8. *Брилис В. И., Брилене Т. А., Ленцнер Х. П., Ленцнер А. А.* Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов // Лабораторное дело. — 1986. — № 4. — С. 210—212.
9. *Johnson J. R., Skubitz K. M., Nowicki B. J., Jacques-Palaz K., Rakita R. M.* Nonlethal adherence to human neutrophils mediated by Dr antigen-specific adhesins of *Escherichia coli* // Infect. And Immun. — 1995. — Vol. 63 (1). — P. 309—316.
10. *Sokurenko E. V., Courtney H. S., Maslow J., Siitonen A., Hasty D. L.* Quantitative difference in adhesiveness of type 1 fimbriated *E. coli* due to structural difference in fim H genes // J. bacteriology. — 1995. — Vol. 177(13). — P. 3680—3686.
11. *Онищенко А. М., Гаврилко Л. О., Коробкова К. С., Сорокулова І. Б., Скрипаль І. Г.* Моносахаридний склад глікокаліксу деяких молікутів і філогенетично близьких їм бактерій роду *Bacillus* // Мікробіол. журнал. — 1999. — Т. 61, № 5. — С. 10—18.

И. Г. Царукьянова, И. Б. Сорокулова, А. И. Осадчая, Н. А. Елинская
Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра микробиологии и вирусологии,
Шампанский пер., 2, Одесса, 65058, Украина

АНТАГОНИСТИЧЕСКИЕ И АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ

Резюме

В результате проведенной работы установлено наиболее оптимальное для проявления антагонизма к тест-культурам патогенных и условно патогенных микроорганизмов соотношение исследуемых бактерий в смешанной культуре -1:1. Установлено, что для штама *B. subtilis* УКМ В-5007 характерна низкая, а для *E. coli* М 17 средняя степень адгезии к эритроцитам крови человека. При создании ассоциативной культуры, как и при изменении условий культивирования степень адгезии обоих штаммов существенно не изменяется.

Ключевые слова: *Bacillus subtilis* УКМ В-5007, *Escherichia coli* М 17, адгезия, антагонистическая активность.

I. G. Tsarukyanova, I. B. Sorokulova, A. I. Osadchaya, N. A. Elinskaya
Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine,
Acad. Zabolotny St., 154, Kyiv, 03143, Ukraine

Mechnikov Odessa National University,
Department of Microbiology and Virusology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

ANTAGONISTIC AND ADHESIVE PROPERTIES OF PROBIOTIC STAMS OF BACTERIA

Summary

As a result of conducted work it has been selected the most optimum for antagonism to test-cultures of pathogenic and opportunistic microorganisms ratio of studied bacteria-1:1. It has been established, that *B. subtilis* УКМ B-5007 has a low and *E. coli* M 17 an average adhesion levels to human blood platelets. It was confirmed that creation of a mixed bacteria culture and modifications in cultivation conditions do not change strain adhesive properties.

Keywords: *Bacillus subtilis* УКМ B-5007-5007, *Escherichia coli* M 17, adhesion, antagonistic activity.

УДК 616-002.151-022.6-078

О. О. Юрченко [1], наук. співроб., **Ю. А. Бощенко** [1], канд. мед. наук, доц., директор, **О. С. Владико** [2] д-р мед. наук, зав. відділом
[1] Український науково-дослідний протичумний інститут ім. І. І. Мечникова, вул. Церковна, 2/4, Одеса, 65003, Україна,
e-mail: oksyurch@ukr.net

[2] НДІ епідеміології і мікробіології МОЗ Республіки Білорусь, вул. К. Цеткін, 4, Мінськ, 220050, Білорусь

ПЕРЕХРЕСНА ІМУНОРЕАКТИВНІСТЬ У ОСОБЛИВО НЕБЕЗПЕЧНИХ ВІРУСІВ ЛАССА, МАРБУРГ І ЕБОЛА

У сироватках хворих на малярію методами непрямої імунофлюоресценції і твердофазного імуноферментного аналізу виявлені антитіла, що специфічно реагують із антигенами вірусів Ласса, Марбург і Ебола. При дослідженні методом імунного блотингу показана локалізація спільних для збудника малярії і вірусу Ласса антигенних детермінант у білка NP вірусу Ласса. На основі порівняльного комп'ютерного аналізу амінокислотних послідовностей в області 122—129 і 154—161 амінокислотних залишків білків NP вірусів Ласса і Ебола ідентифікований один із спільних антигенних сайтів.

Ключові слова: вірусні геморагічні лихоманки Ласса, Марбург і Ебола, діагностика, перехресна реактивність.

Вірусні геморагічні лихоманки Ласса, Марбург і Ебола є високо контагіозними захворюваннями людини. Вони характеризуються важким перебігом і високою летальністю. Тому специфічна лабораторна діагностика цих інфекцій має велике значення як для стратегії відповідного лікування, так і для організації профілактичних і протиепідемічних заходів.

Разом з тим, фахівці в галузі лабораторної діагностики неодноразово зіштовхуються з так званими "хибнопозитивними" реакціями. Однією з причин їхнього виникнення є здатність збудників різних захворювань індукувати утворення перехресно реагуючих антитіл внаслідок наявності в їхньому складі спільних антигенних детермінант. Так, у 1990 р. J. Khalife із співавт. і F. E. G. Cox опублікували результати, що стосуються виявлення ідентичних антигенних структур у філогенетично віддалених представників біологічного світу — гельмінта *Shistosoma mansoni* і вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ) [1, 2]. W. R. Mackenzie із співавт. (1992) при вивченні напруженості поствакцинного імунітету, сформованого після імунізації людей корпускулярною убитою протигрипозною вакциною, знайшли в сироватках обстежених осіб, крім антигрипозних антитіл, антитіла до вірусів гепатиту С, ВІЛ і HTLV-1 [3]. Сероконверсія до ВІЛ була виявлена після вакцинації проти гепатиту В [4].

© О. О. Юрченко, Ю. А. Бощенко, О. С. Владико, 2004

Раніше було показано, що сироватки хворих малярією реагують одночасно з антигенами вірусів високо контагіозних лихоманок Ласса, Марбург і Ебола [5]. Тому метою даної роботи є серологічний і біохімічний доказ існування спільних антигенних детермінант у вірусів, що представляють різні родини: *Filoviridae* (Ебола) і *Arenaviridae* (Ласса).

Матеріали і методи

У роботі використовували віруси Ласса (штам *Josiah*), Марбург (штам *Voege*) і Ебола (*Zaire*, штам *Maying*), отримані від доктора G. van der Groen (Інститут тропічної медицини, Антверпен, Бельгія).

Віруси були клоновані тричі з бляшки в бляшку на клітинах Vero, а потім розмножені на клітинах ВНК-21 чи Vero. Титри клонованих стандартних вірусів складали $2–7 \cdot 10^6$ БУО/мл.

Накопичення вірусів і визначення їхньої інфекційної активності здійснювали за методикою, описаною раніше [6]. Вірус концентрували та очищали методами [7, 8] і використовували як антиген для твердофазного імуноферментного аналізу (ТІФА).

Як референс використовували сироватки реконвалесцентів: до вірусу Ласса — № 095312 (люб'язно надана G. van der Groen, Інститут тропічної медицини, Антверпен, Бельгія), до вірусу Марбург — № 700808 і до вірусу Ебола — № 096023 (люб'язно надані D. McCormick, Центр з контролю за інфекційними захворюваннями, Атланта, США).

Твердофазний імуноферментний аналіз провадили за раніше описаним методом [9].

Клітини, які містили антиген, (слайди) для проведення тесту непрямої імунофлюоресценції (РНІФ) готували за методом H. Wulff із співавт. [10]. Сироватки перед проведенням РНІФ розводили (1:16) фосфатно-сольовим буфером.

Імуноблотинг провадили за методом H.Towbin із співавт. [11].

Комп'ютерну обробку амінокислотних послідовностей білків NP вірусів Ласса [12] і Ебола [13] здійснювали за допомогою програми "DNAsis" [14, 15].

Результати досліджень та їх обговорення

Сироватки, отримані від хворих на малярію, були тестовані на наявність антитіл до тропічних вірусних геморагічних лихоманок Ласса, Марбург і Ебола шляхом реакції непрямої імунофлюоресценції (РНІФ) і твердофазного імуноферментного аналізу (ТІФА). Всього було тестовано 36 сироваток. У 14 з них містилися специфічні антитіла щонайменше до одного антигену: 3 сироватки реагували з одним вірусним антигеном, 3 — з двома и 8 — з трьома. При цьому сироватка 1754 прореагувала з усіма трьома антигенами при аналізі методами РНІФ і ТІФА. Саме тому у подальшому вона була використана

для визначення титру антитіл у РНІФ з антигенами вірусів Ласса, Марбург і Ебола. Виявилося, що титри антитіл до вірусу Ласса в сироватці склали 1 : 512, до вірусу Марбург — 1 : 256, а до вірусу Ебола — 1 : 64. Сироватка 1754 давала світіння з антигенами вірусів Ласса, Марбург і Ебола аналогічне світінню, що спостерігалося з моноспецифічними референс-сироватками і не реагувала з нормальними неінфікованими клітинами.

Можна припустити, що збудник малярії індукує у людини клон (клони) антитіл, які перехресно реагують з арена- і філовірусами і що збудник малярії і дані віруси мають спільні антигенні детермінанти. З метою доказу цього було зроблено спробу локалізувати з використанням антитіл до збудника малярії (сироватка 1754) спільний антигенний сайт на рівні вірусних білків. Дослідження провадили з вірусом Ласса методом імунного блотингу (ІБ). Було показано, що сироватка 1754 зв'язувалася з білком NP вірусу Ласса, тоді як у контрольних зразках специфічна до вірусу Ласса сироватка зв'язувалася з структурними білками NP і GP2, а нормальна сироватка з вірусними білками не реагувала. Виходячи з даних ІБ, можна зробити висновок, що спільний антигенний сайт для збудника малярії і вірусу Ласса локалізований у нуклеопротеїні вірусу Ласа.

Це припущення підтверджується результатами порівняльного комп'ютерного аналізу амінокислотних послідовностей білків NP вірусів Ласса і Ебола. З рисунку 1 видно, що у вірусу Ласса в області 122—129, а у вірусу Ебола — 154—161 амінокислотних залишків є високий ступінь гомології, обумовлений консервативними амінокислотними замінами, розташованими в ідентичних гідрофільних зонах.

Таким чином, проведені дослідження дозволяють зробити висновки про те, що в деяких випадках так звані "хибнопозитивні" реакції пов'язані із здатністю збудників різних видів (і навіть тих, що відносяться до різних царств живої природи) індукувати синтез перехресно реагуючих антитіл. Окрім того, показано, що віруси Ласса і Ебола, котрі відносяться до різних родин (*Arenaviridae* і *Filoviridae*) містять спільні антигенні детермінанти. Частина із спільних антигенних детермінант локалізується в білках нуклеопротеїнів (NP) вірусів. Показано, що один із спільних антигенних сайтів розташований в області 122—129 і 154—161 амінокислотних залишків білків NP вірусів Ласса і Ебола відповідно.

```
Ласса (NP) 120 — L-S-?-A-G-V-Y-M-G-N-L-?-?-  131
                   * *  *             *
                   * *  * * * * * *   *
Ебола (NP) 151 — L-S-F-A-S-L-F-L-P-K-L-V-V-  163
```

Рис. 1. Порівняльний аналіз амінокислотних послідовностей білків NP вірусів Ласса і Ебола

Примітка: L — лейцин, S — серин, A — аланін, G — гліцин, V — валін, Y — тирозин, M — метіонін, N — аспарагін, F — фенілаланін, P — пролін, K — лізін. Одна зірочка — консервативні амінокислотні заміни, дві зірочки — гомологічні амінокислоти

З урахуванням висловленої гіпотези і на підставі проведених нами досліджень, можливо, у майбутньому буде запропоновано новий підхід щодо удосконалення серологічних методів діагностики лихоманок Ласса і Ебола шляхом виключення перехресно реагуючих антигенних детермінант із складу діагностичних імунобіологічних препаратів і підвищення їх специфічності. Згодом такий підхід може бути використаний для вдосконалення діагностики інших інфекцій, що свідчить про загальбіологічне значення проведених досліджень.

Висновки

1. При дослідженні методами непрямої імунофлюоресценції і твердофазного імуноферментного аналізу сироваток крові хворих на малярію виявлено антитіла, що реагують з антигенами вірусів Ласса, Марбург і Ебола.
2. За допомогою імунного блотингу показано, що спільні для збудників малярії і лихоманки Ласса антигенні детермінанти локалізовані у білку NP вірусу Ласса.
3. Порівняльний комп'ютерний аналіз амінокислотних послідовностей виявив один із спільних антигенних сайтів, розташований в області 122—129 і 154—161 амінокислотних залишків білків NP вірусів Ласса і Ебола, що належать до різних родин вірусів.

Література

1. *Khalife J., Grzych J. M., Pierce R.* et al. Capron A immunological crossreactivity between the human immunodeficiency virus type 1 virion infectivity factor and a 170 kD surface antigen of Schistosoma mansoni // J. exp. Med. — 1990. — Vol. 172. — P. 1001—1004.
2. *Cox F. E. G.* The worm and the virus // Nature. — 1990. — Vol. 347. — P. 618.
3. *Mackenzie W. R.,Davis J. P.,Peterson D. E.* et al. Multiple false-positive serologic tests for HIV, HTLV-1 and hepatitis-C following influenza vaccination, 1991 // J. Amer. med. Assoc. — 1992. — Vol. 268. — P. 1015—1017.
4. *Lee D. A., Eby W. C., Molinaro G. A.* HIV false positivity after hepatitis B vaccination // Lancet. — 1992. — № 339. — P. 1060.
5. *Vladyko A. S., Zajtseva V. N., Maryankova R. F., Petkevich A. S.* Malaria patient serum cross-reacts with Lassa, Marburg and Ebola viruses // 8th International Congress of Immunology. — Budapest (Hungary). — 1992. — P. 520.
6. *Лукашевич И. С., Марьянкова Р. Ф., Петкевич А. С.* и др. Накопление некоторых аренавирусов в перевиваемых клетках Vero и ВНК-21 // Вопр. вирусол. — 1981. — № 2. — С. 164—168.
7. *Лукашевич И. С., Стельмах Т. А., Голубев В. П., Вотяков В. И.* Седиментационный и электрофоретический анализ геномных РНК патогенных аренавирусов // Мол. генетика, микробиол. и вирусол. — 1984. — № 1. — С. 21—24.
8. *Lukashevich I. S., Stelmakh T. A., Golubev V. P.* et al. Ribonucleic acid of Machupo and Lassa viruses // Arch. virol. — 1984. — Vol. 79. — P. 189—203.
9. *Иванов А. П., Ткаченко Е. А., ван дер Гроен* и др. Непрямой иммуноферментный метод для лабораторной диагностики геморрагических лихорадок Ласса и Ебола // Вопр. вирусол. — 1986. — № 2. — С. 186—190.
10. *Wulff H.,Lange J. V.,Webb P. A.* Interrelationships among arenaviruses measured by indirect immunofluorescence // Intervirology. — 1978. — Vol. 9. — P. 344—350.

11. *Towbin H., Stachelin T., Gordon J.* Electrophoretic transfer of protein from polyacrilamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications // Proc. natl. Acad. Sci. USA. — 1979. — Vol. 76. — P. 4350—4354.
12. *Auperin D. D., McCormick J. B.* Nucleotide sequence of the Lassa virus (Josiah strain) S genome RNA and amino-acid sequence comparison of the N and GPS proteins to other arenaviruses // Virology. — 1989. — Vol. 168. — P. 421—425.
13. *Sanchez A., Kiley M. P., Holloway B. P.* et al. The nucleoprotein gene of Ebola virus: cloning sequencing, and in vitro expression // Virology. — 1989. — Vol. 170. — P. 81-91.
14. *Chou P. Y., Fasman G. D.* Empirial predictions of protein conformation // Ann. Rev. Biochem. — 1978. — Vol. 47. — P. 251—276.
15. *Hu X. M., Wu H. W., Zhang Z. S.* et al. Analysis of the mitochondria-related protein of Schistosoma japonicum and its antigen epitopes // Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi. — 2001. — Vol. 19. — P. 19—21.

О. А. Юрченко, Ю. А. Бощенко, А. С. Владыко
Украинский научно-исследовательский противочумный институт
им. И. И. Мечникова
ул. Церковная, 2/4, Одесса, 65003, Украина

НИИ эпидемиологии и микробиологии МЗ Республики Беларусь
ул. К. Цеткин, 4, Минск, 220050, Беларусь

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ИММУНОРЕКТИВНОСТЬ СРЕДИ ОСОБО ОПАСНЫХ ВИРУСОВ ЛАССА, МАРБУРГ И ЭБОЛА

Резюме

В сыворотках больных малярией методами непрямой иммунофлюоресценции и твердофазного иммуноферментного анализа выявлены антитела, специфически реагирующие с антигенами вирусов Ласса, Марбург и Эбола. При исследовании методом иммунного блотинга показана локализация общих для возбудителя малярии и вируса Ласса антигенных детерминант в белке NP вируса Ласса. На основе сравнительного компьютерного анализа аминокислотных последовательностей в области 122—129 и 154—161 аминокислотных остатков белков NP вирусов Ласса и Эбола идентифицирован один из общих антигенных сайтов.

Ключевые слова: вирусные геморрагические лихорадки Ласса, Марбург и Эбола, диагностика, перекрестная реактивность.

O. A. Yurchenko, Y. A. Boshchenko, A. S. Vladyko
Ukrainian Mechnikov Research Antiplague Institute
Zerkovnaya St., 2/4, Odessa, 65003, Ukraine

Research Institute of Epidemiology and Microbiology
K. Zetkin St., 4, Minsk, 220050, Belarus

CROSS-IMMUNOREACTIVITY AMONG LASSA, MARBURG AND EBOLA ESPECIALLY DANGEROUS VIRUSES

Summary

Specifically reacting antibodies with the antigenes of Lassa, Marburg and Ebola viruses were found into sera of patients with malaria by indirect immunofluorescence

technique and enzyme-linked immunosorbent assay. Localization of the common antigenic determinants for the malaria agent and Lassa virus is shown in NP protein of Lassa virus by Western blot technique. One of the common antigenic sites is identified in the field of 122—129 and 154—161 aminoacid rests of Lassa and Ebola viruses NP proteins by the comparative computer analysis of aminoacid sequences.

Keywords: Lassa, Marburg and Ebola hemorrhagic fevers, diagnostics, cross-reactivity.

УДК 579.864.1:616.331

Г. В. Ямборко [1], канд. техн. наук, доц., **В. І. Маленкова** [1], студ.,
А. П. Петросьянц [2], асп.

[1] Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра мікробіології і вірусології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65 026, Україна
e-mail: ivanitsa@yandex.ru

[2] Одеська національна академія харчових технологій,
кафедра біохімії і мікробіології,
вул. Канатна, 112, Одеса, 65039, Україна

ЗДАТНІСТЬ БАКТЕРІЙ РОДУ *LACTOBACILLUS* ВИЛУЧАТИ ХОЛЕСТЕРИН ІЗ ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА

Вивчено здатність деяких промислових штамів бактерій роду *Lactobacillus* зменшувати рівень холестерину у живильному середовищі. Встановлено, що найбільшою здатністю поглинати холестерин з рідкого середовища МРС володів штам *Lactobacillus acidophilus* OL4. З'ясовано, що вилучення холестерину з культурального середовища відбувається інтенсивніше при низькому значенні pH (4,2—4,5).

Ключові слова: лактобацили, холестерин.

Багаточисельними дослідженнями вітчизняних та зарубіжних авторів доведено, що підвищення загального змісту холестерину в крові людини збільшує ризик виникнення коронарних серцевих захворювань. За даними Академії медичних наук України від 75 до 80 % населення нашої країни страждає на захворювання сердечно-судинної системи. Лікувальні засоби, які пропонуються, не завжди є ефективними.

У останні десятиріччя в науковій літературі з'явилися повідомлення, що вживання певних кисломолочних продуктів, які створені на основі бактерій роду *Lactobacillus*, приводить до зниження рівня холестерину в організмі людини і тварин [1—4].

Існує дуже мало інформації про дію лактобацил на холестерин та інші стероїдні речовини. Вважаємо, що вивчення заквасочних штамів лактобактерій з погляду використання їх як стартерних культур при виробництві продуктів функціонального харчування, що контролюють рівень холестерину в організмі і тим самим знижують ризик коронарних захворювань серця, є актуальним.

Тому метою даної роботи було визначення здатності деяких промислових штамів бактерій роду Lactobacillus зменшувати рівень холестерину у живильному середовищі.

© Г. В. Ямборко, В. І. Маленкова, А. П. Петросьянц, 2004

Матеріали та методи

Об'єктами досліджень були штами бактерій роду *Lactobacillus*, що використовуються у якості стартерних культур для одержання комерційних препаратів і продуктів лікувально-профілактичного призначення: *L. acidophilus* 317/402 (кисломолочний продукт "Нарине", Україна), *L. johnsonii* La1 (пробіотичний йогурт "Nestle-Mis-Lc1", Швейцарія), *L. plantarum* 8P-A3 ("Лактобактерін" сухий, Росія), *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* N2 (йогурт виробництва "Фармасайнс Інк", Канада), а також штам *L. acidophilus* OL4, виділений з некомерційного ферментованого продукту, виготовленого у Одеському регіоні.

Для визначення стійкості до жовчі досліджувані штами вирощували у рідкому середовищі МРС за наявності 0,3 % бичачої жовчі і без неї. В усіх варіантах експерименту 0,1 мл добової культури лактобацил (10^8 КУО/мл) вносили у 5 мл середовища МРС (pH 6,0) і інкубували при температурі 37 °С протягом 18 годин. Число КУО в 1 мл середовища визначали шляхом висіву 0,1 мл культури з розведень 10^{-7} і 10^{-8} на щільне середовище МРС через 3, 6, 9 і 18 годин культивування.

Для визначення інтенсивності впливу бактерій на вміст у середовищі холестерину добову культуру лактобацил інокулювали у МРС бульйону з додаванням бичачої жовчі, тіоглікохолату натрію і свіжовиготовленого розчину холестерину [5]. Пробірки з інокульованим живильним середовищем вирощували у стандартних умовах без контролю pH середовища і з постійним його значенням (pH 6,0) для середовища МРС. Усі інокульовані культури вирощували анаеробно при 37 °С на водяній бані. Проби відбирали в асептичних умовах через 0, 16, 18, 20 і 22 години культивування.

Клітини вилучали з бульйону центрифугуванням протягом 10 хвилин при 12000 об/хв і температурі 1 °С. Для визначення холестерину у середовищі МРС використовували метод, описаний L. Rudel [6] і модифікований співробітниками відділу біотехнології Технологічного інституту молока і м'яса УААН. Паралельно з досліджуваними пробами визначали вміст холестерину в неінокульованому стерильному бульйоні, а також у стандартній пробі, що містить 0,1 мг холестерину.

Вміст холестерину (мг/мл) обчислювали за формулою: $\frac{1мг/мл \times E_{проби}}{E_{стандарту}}$,

де E — оптична щільність розчинів.

Кількість холестерину, поглинену і вилучену з бульйону, визначали вирахуванням кількості холестерину, що міститься у пробі, від кількості холестерину у неінокульованому контрольному бульйоні МРС [5, 6].

Усі експериментальні дані, отримані за проведення досліджень, обробляли математично за програмою STATISTICA ©5.XX for Windows (StatSoft Inc., USA).

Результати досліджень

Згідно з даними K. Hutkins [7] поглинання холестерину бактеріями спостерігається тільки у випадку анаеробного вирощування культури лактобацил у присутності жовчі. Тому було доцільно провести тестування досліджуваних культур на їх резистентність до жовчі. Кількість жовчі, необхідної для того, щоб культура бактерій впливала на вміст холестерину в ростовому середовищі, не повинна перевищувати нормального її рівня у шлунково-кишковому тракті [8]. Тому експериментальна концентрація жовчі в живильному середовищі складала 0,3 %.

Відомо, що активність процесу ферментування субстрату залежить від того, наскільки швидко мікроорганізми проходять lag-фазу і наскільки стрімко піднімається логарифмічна частина кривої росту. В результаті досліджень встановлено, що найкращі результати отримані при культивуванні штаму *L. acidophilus OL4* (табл. 1). Інтенсивність його росту (штам характеризувався найменшою lag-фазою) і, відповідно, кількість колонієутворюючих одиниць при рості даного штаму в рідкому середовищі МРС були достовірно вищими, ніж у інших досліджуваних штамів лактобацил ($p \leq 0,05$).

При порівнянні культур по їх резистентності до жовчі, було встановлено, що штами *L. acidophilus* OL4 і *L. acidophilus* 317/402 виявилися найбільш стійкими до жовчі у концентрації 0,3 %. Ріст штамів *L. plantarum* 8P-A3, *L. johnsonii* La1 і *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* N2 характеризувався збільшенням lag-фази і зниженням кількості життєздатної біомаси.

За вивчення стійкості досліджуваних штамів лактобацилл до жовчі підтвердилися дані, отримані S. E. Gilliand [2], який виявив, що штами бактерій роду *Lactobacillus*, що повільно ростуть у контрольному бульйоні, являються менш жовчетолерантними.

Для визначення здатності досліджуваних штамів лактобацил впливати на рівень холестерину у середовищі пробірки з живильним середовищем МРС, засіяним тест-культурами лактобацил, вирощували без одночасного контролю pH і з постійним його значенням (pH = 6,0).

Значення pH ростового середовища, що на початку експерименту дорівнювало 6,0 для усіх тестованих штамів лактобацил, знизилося до значення 4,2 після 16 і 18 годин росту для *L. acidophilus* OL4 і *L. acidophilus* 317/402 відповідно і залишалося незмінним до кінця дослідження.

pH середовища, у якому культивували штами *L. plantarum* 8P-A3, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* N2 і *L. johnsonii* La1, понизилася до значень 4,3, 4,2 і 4,5 відповідно після 22 годин інокуляції. pH зразків, вирощених у середовищі з контрольованою кислотністю, спочатку дорівнювала 6,0, але знижувалася до 5,8 із-за продукції органічних кислот. Після цього pH підтримували на рівні 5,8 протягом усього експерименту.

Таблиця 1

Інтенсивність росту досліджуваних штамів лактобацил на середовищі МРС з добавкою жовчі

Досліджуваний штам	Кількість клітин (lg КУО у 1 см^3)							
	через 3 години росту		через 6 годин росту		через 9 годин росту		через 18 годин росту	
	контроль	МРС+жовч	контроль	МРС+жовч	контроль	МРС+жовч	контроль	МРС+жовч
L. acidophilus OL4	7,4 ± 0,2	6,6 ± 0,2	8,6 ± 0,1	6,8 ± 0,4	8,8 ± 0,6,	7,4 ± 0,1	8,6 ± 0.2	7,1 ± 0,3
L. acidophilus 317/402	7,1 ± 0,1	6,3 ± 0,5	8,4± 0,9	6,5 ± 0,5	8,5 ± 0,3	7,1 ± 0,5	8,5 ± 0,6	6,6 ± 0,5
L. johnsonii La1	7,1 ± 0,5	5,7 ± 0,1	7,7 ± 0,2	5,9 ± 0,2	8,1 ± 0,1	6,2 ± 0,1	8,0 ± 0,1	6,1 ± 0,2
L. plantarum 8P-A3	6,7 ± 0,3	6,1 ± 0,2	7,8 ± 0,1	6,3 ± 0,1	8,1 ± 0,6	6,6 ± 0,3	8,0 ± 0,2	6,2 ± 0,3
L. delbrueckii subsp. bulgaricus N2	6,9 ± 0,6	5,4 ± 0,4	8,2 ± 0,9	5,6 ± 0,6	8,2 ± 0,3	5,9 ± 0,3	8,2 ± 0.2	5,6 ± 0,5

Кількість холестерину, вилученого з рідкого середовища МРС, було різним для досліджуваних штамів бактерій роду *Lactobacillus*. Достовірних розходжень у кількості холестерину, поглиненого штамом *L. acidophilus* 317/402 із МРС бульйону в умовах контрольованого і неконтрольованого значення pH, не виявлено в жодному з досліджуваних зразків (рис. 1).

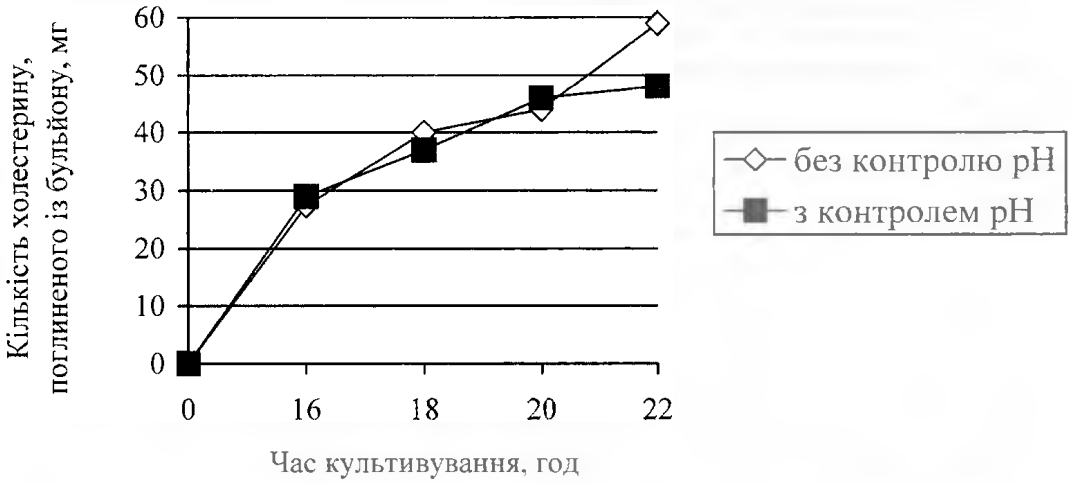


Рис. 1. Вплив *Lactobacillus acidophilus* 317/402 на вміст холестерину в МРС бульйоні в умовах контрольованого и неконтрольованого значення pH.

Для штаму *L. acidophilus* OL4 кількість холестерину, вилученого з МРС середовища з pH 5,8, була значно нижчою, ніж з бульйону без фіксованого значення pH при аналізі зразків після 16, 18 і 20 годин інкубації (рис. 2). Однак, у пробі, відібраій після 22 годин культивування штаму, різниця у кількості поглиненого холестерину була незначною (59,7 і 64,2 мг відповідно).

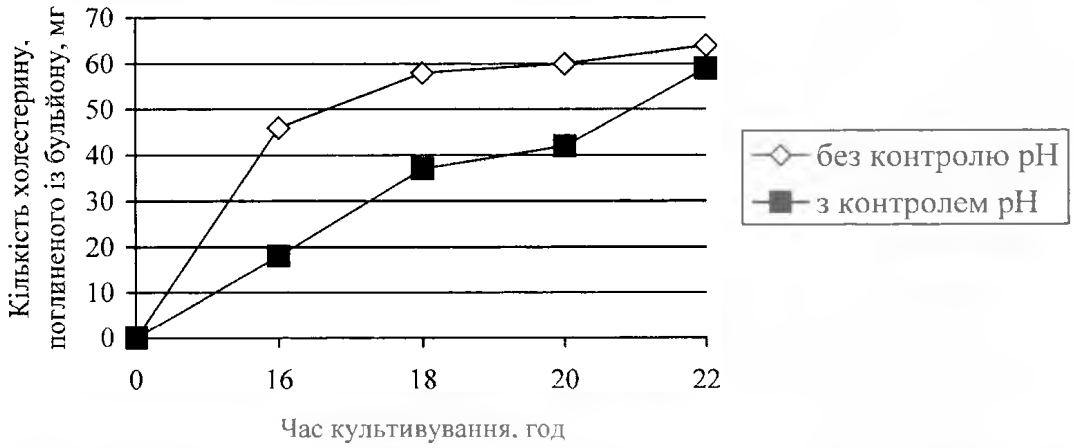


Рис. 2. Вплив *Lactobacillus acidophilus* OL4 на вміст холестерину в МРС бульйоні в умовах контрольованого и неконтрольованого значення pH.

Кількість поглиненого холестерину, виявлена за культивуванням штамів *L. plantarum* 8Р-А3, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* N2 і *L. johnsonii La1* у середовищі МРС із додаванням 0,3 % бичачої жовчі, 2 % тіоглікохолату натрію і 10 % розчину холестерину, була достовірно нижчою ($p \leq 0,05$), ніж для штамів виду *L. acidophilus*. У той же час штам *L. plantarum* 8Р-А3 достатньо активно зростав на середовищі у присутності жовчі (табл. 1). Таким чином, підтвердилися дані, отримані J. Rasic (1992) про те, що толерантні до жовчі штами лактобацил не обов'язково мають здатність поглинати холестерин [9].

Штам *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* N2, вирощений в умовах постійного значення pH середовища і без контролю кислотності середовища, вилучав відповідно 7 і 47 мг холестерину з бульйону.

Ці результати дають підстави для припущення, что вилучення холестерину з культурального середовища відбувається інтенсивніше за низького значення pH (4,2—4,5). Аналогічні дані отримані в дослідженнях K. Hutkins і S. Lin et al. [6, 8].

Ряд дослідників [2, 8, 10, 11] вважають, що вилучення холестерину з живильного середовища відбувається завдяки руйнуванню холестерину й осадженню його з декон'югованими жовчними кислотами — холевою і дезоксіхолевою. Ці кислоти у організмі легко з'єднуються у печінці з гліцином і таурином, утворюючи кон'югати: глікохолеву і таурохолеву кислоти. Деякі штами бактерій роду *Lactobacillus* декон'югують жовчні кислоти під час росту завдяки присутності ферментів естераз, дія яких підсилюється у кислому середовищі. Холева кислота стає менш розчинною за зниження pH середовища, особливо при $pH < 5$ [10, 11]. Оскільки pH середовища зменшується в результаті утворення органічних кислот лактобацилами, холева кислота осаджується з бульйону і може викликати осадження холестерину.

Як показали проведені дослідження, найбільшою здатністю вилучати холестерин з рідкого середовища МРС володіє штам *Lactobacillus acidophilus* OL4, що був ізольований з некомерційного кисломолочного продукту, виготовленого в Одеському регіоні. Відмінності між штамами бактерій роду *Lactobacillus* щодо їх здатності впливати на рівень холестерину у середовищі, вказує на необхідність та доцільність провадити селекцію серед штамів лактобактерій, ізольованих із різних екологічних ніш.

Висновки

1. Штами *L. acidophilus* OL4 і *L. acidophilus* 317/402 є найбільш стійкими до жовчі в концентрації 0,3 %.
2. Штами бактерій роду *Lactobacillus*, що повільно ростуть у контрольному бульйоні МРС без додавання жовчі, є менш жовчетолерантними.
3. Найбільшою здатністю вилучати холестерин з рідкого середовища МРС володіє штам *Lactobacillus acidophilus* OL4.

4. Вилучення холестерину з культурального середовища відбувається інтенсивніше при низькому значенні pH (4,2—4,5).

Література

1. *Buck L. M., Gilliland S. E.* Comparisons of freshly isolated strains of Lactobacillus acidophilus of human intestinal origin for ability to assimilate cholesterol during growth // J. Dairy Sci. — 1994. — 77. — P. 2925—2933.
2. *Gilliand, S. E., Speck M. L.* Deconjugation of bile acids by intestinal lactobacilli // Appl. Environ. Microbiol. — 1997. — № 15. — P. 35.
3. *Gilliand, S. E., Nelson C. R., Maxwel C.* Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus* acidophilus // Appl. Environ. Microbiol. — 1995. — № 14. — P. 87—88.
4. *Harrison, V. C., Peat G.* Serum cholesterol and bowel flora in the newborn // Am. J. Clin. Nutr. — 1995. — № 28. P. 1351.
5. *Holt R.* The roles of bile acids during the process of normal fat and cholesterol absorption // Appl. Environ. Microbiol. — 1972. — № 25. — P. 45—46.
6. *Hutkins K.* pH gomeostasis in lactic acid bacteria // J. Dairy Sci. — 1991. — 74, № 1. — P. 110.
7. *Klaver F. A., Van der Meer R.* The assumed assimilation of cholesterol by Lactobacilli and Bifidobacterium bifidum is due to their bile saltdeconjugating activiti // Appl. Environ. Microbiol. — 1993. — № 34. — P. 67—69.
8. *Lin S.Y., Ayres W., Winkler W., Sandine W. E. Lactobacillus* effects on cholesterol: in vitro and in vivo results // J. Appl. Bacteriol. — 1989. — № 26. — P. 35—37.
9. *Rasic J. Lj., Vulic M.* Assimilation of cholesterol by some cultures of lactic acid bacteria and bifidobateria // Biotechnol. Lett. — 1992. — 14, № 1. — P. 39—44.
10. *Razin S.,Kutner S.,Efrati H.,Rotten S.* Phospholipid and cholesterol uptake by mycoplasma cells and membranes // Biochim. Biophis. — 1980. — № 35. — P. 57—60.
11. *Rudel L. L., Morris M. D.* Determination of cholesterol using s- phtalaldehyde. // L. Clin. Res. — 1973. — № 34. — P. 78—80.

А. В. Ямборко, В. И. Маленкова, А. П. Петросьянц
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, каф. микробиологии и вирусологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

Одесская национальная академия пищевых технологий, каф. биохимии и микробиологии,
ул. Канатная, 112, Одесса, 65039, Украина

СПОСОБНОСТЬ БАКТЕРИЙ РОДА LACTOBACILLUS ПОГЛОЩАТЬ ХОЛЕСТЕРИН ИЗ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ

Резюме

Изучена способность некоторых промышленных штаммов бактерий рода Lactobacillus снижать уровень холестерина в питательной среде. Установлено, что наибольшей способностью поглощать холестерин из жидкой среды МРС обладал штамм Lactobacillus acidophilus OL4. Показано, что удаление холестерина из культуральной среды происходит интенсивнее при низком значении pH (4,2—4,5).

Ключевые слова: лактобациллы, холестерин.

G. V. Yamborko, V. I. Malenkova, A. P. Petrosyants
I. I. Mechnikov Odessa National University,
Department of Microbiology and Virology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

Odessa National Academy of Food Technologies,
Department of Biochemistry and Microbiology,
Kanatnaya St., 112, Odessa. 65039, Ukraine

THE ABILITY OF LACTOBACILLI TO REMOVE CHOLESTEROL FROM NUTRIENT MEDIUM

Summary

The ability of some commercial Lactobacillus strains to decrease the cholesterol level in nutrient medium was studied. It has been shown that the strain Lactobacillus acidophilus OL4 can remove the cholesterol from MRS broth more intensive. It was found out that all the tested Lactobacillus strains removed cholesterol from the broth during growth without pH control (pH 4,2—4,5) more intensive.

Keywords: lactobacilli, cholesterol.

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН

УДК 577.164.12.001.5:591

Л. М. Карпов [1], д-р біол. наук, проф., **О. В. Запорожченко** [2], канд. біол. наук, доц., **О. К. Будняк** [2], канд. біол. наук, доц., **А. В. Сорокін** [2], канд. біол. наук, доц.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
[1] кафедра фізіології людини та тварин,
[2] кафедра біохімії
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна
e-mail: l_karpov@yandex.ru

ЗАХИСНА ДІЯ ГАМК-ВМІЩУЮЧИХ ТА ВІТАМІННИХ ПРЕПАРАТІВ НА РІВЕНЬ ФЛАВІНОВИХ І НІКОТИНАМІДНИХ КОФЕРМЕНТІВ У ЩУРІВ З ПІДГОСТРОЮ ГІПОБАРИЧНОЮ ГІПОКСІЄЮ

Вивчено вплив підгострої гіпобаричної гіпоксії (280 мм рт. ст.) на вміст флавінових та нікотинамідних коферментів в органах щурів. Показано, що така гіпоксія викликає зниження в них рівня всіх форм флавінів та окиснених форм нікотинамідних коферментів. Захисна дія ГАМК-вміщуючих препаратів — пікамілону (ПМ) та пантогаму (ПГ) — була ефективною, спільне їх введення разом із сумішшю вітамінів (B_1, ФМН, нікотинова кислота) (далі ВК) збільшувало цей ефект. Захисна дія аскорбінату-ГАМК (АГ) та його сполучення з ВК за цього типу гіпоксії була незначною.
Ключові слова: рибофлавін, нікотинамідні кофермента, вітаміни.

Гіпоксія супроводжує великий спектр патологічних станів — від серцево-судинних та онкозахворювань до таких явищ, як шкідливі умови праці на виробництві або спорт та ін. [1—3]. Вона часто буває пов'язана з порушеннями обміну вітамінів групи В (зниження біосинтезу коферментних форм, підвищення розпаду та виведення з організму) і функцій залежних від них ферментів [4]. На гіпоксичні порушення можна досить істотно впливати [5]. Наступна робота є продовженням досліджень механізмів дії гіпоксичних станів різної природи на біохімічні показники організму [6, 7] і можливостей попередження їх порушень.

Перспективними сполуками, які можна використовувати для захисту тканин від гіпоксії, є препарати, створені на основі вітамінів і ГАМК (γ — аміномасляної кислоти) [3, 8—11]. Ми використовували саме такі препарати — пантогам (пантоїл-ГАМК) і пікамілон (нікотиноїл-ГАМК-Na) — сумісно з препаратом, що містив вітаміни. Останній складався з трьох компонентів: B_1, РР, ФМН. Вибір нікотинової кислоти обумовлений її судинорозширюючими властивостями. Крім того, вона, та інші вітаміни, є потужним активатором обміну сполук у головному мозку, який більше всього страждає від гіпоксії.

© Л. М. Карпов, О. В. Запорожченко, О. К. Будняк, А. В. Сорокін, 2004

У зв'язку з цим мета даної роботи полягала у визначенні захисної дії деяких ГАМК-вміщуючих препаратів, введених окремо або сумісно з трикомпонентним вітамінним препаратом безпосередньо перед дією гіпоксії, на вміст флавінових та нікотинамідних коферментів в органах щурів.

Матеріали та методи

Експерименти провадили на щурах Вістар вагою 160—200 г. Для створення підгострої гіпобаричної гіпоксії (ГГ) щурів розміщували в ексикаторі, протягом 10 хв. відкачували повітря до 280 мм рт. ст. і за цих умов витримували 60 хвилин. Препарати внутрішньом'язово вводили тваринам в об'ємі 0,3 мл за 30 хвилин до ГГ і брали їх у дослід через 10 хвилин після впливу гіпоксії. Варіанти груп щурів, введені речовини та їх дози (у ммоль/кг та мг/кг): 1). Контроль-1 — тварини отримували фізіологічний розчин (ФР) і утримувалися за нормальних умов. Щури, що підлягали дії ГГ, поділялися на такі групи: 2). Контроль-2 (ФР). 3). ГАМК — 0,19 (20). 4). ГАМК+ВК (Склад і дози вітамінів у ВК були такими: B_1 — 0,017 (6), ФМН — 0,004 (2), нікотинова кислота — 0,16 (20). 5). Пантогам (ПГ) — 0,096 (20). 6). ПГ+ВК. 7). Пікамілон (ПМ) — 0,087 (20). 8). ПМ+ВК. 9). Аскорбінат-ГАМК (АГ) — 0,096 (25). 10). АГ+ВК.

В гомогенатах органів визначали рівень різних фракцій флавінів за С. Юденфрендом [12] та нікотинамідних коферментів за Ю. М. Островським [13] і О. А. Коденцовою [14].

Отримані результати обробляли статистично за Стьюдентом [15].

Результати досліджень

За гіпобаричної гіпоксії рівень усіх форм флавінів (табл. 1) зменшувався в порівнянні з інтактними тваринами. Сильніше змінювався рівень ФАД, він був нижчим, ніж у контролі-1, у 1,7—2,5 рази, тоді як рівень (РФ+ФМН) знижувався в 1,8—2 рази.

Усі ГАМК-вміщуючі препарати, які використовували для корекції метаболічних порушень (ГАМК, ПМ, ПГ, АГ), певною мірою зменшували або повністю нівелювали зміни метаболізму, спровоковані гіпоксією.

Найбільш ефективним було застосування ПГ і ПМ. У печінці оптимальною виявлялася дія ПГ і препарату (ПМ+ВК), у мозку — обидва застасовані препарати з ПГ, а в серці, крім того, ще і (ПМ+ВК). У нирках найбільш ефективним був вплив (ПГ+ВК), проте, слід зазначити, що жоден з використаних препаратів не відновлював повністю рівень ФАД (а разом з ним і рівень ЗФ — загальних флавінів) у цьому органі.

За підгострої гіпобаричної гіпоксії вміст НАД(Ф)Н достовірно підвищувався на 10—36 %, а вміст окиснених форм вірогідно зменшувався у всіх досліджуваних органах на 41—62% (табл. 2).

Таблиця 1

Вплив ГАМК-вміщуючих препаратів, введених щурам окремо і разом з вітамінним препаратом, на вміст флавінів та їх похідних (мкг/г) після підгострої гіпобаричної гіпоксії (280 мм рт. ст. х 60 хв.), n=8

Орган	Показник	Контроль-1	Гіпоксія								
			Контроль-2	ГАМК	ГАМК+ВК	ПГ	ПГ+ВК	ПМ	ПМ+ВК	АГ	АГ+ВК
Печінка	ЗФ	30,57± 0,71*	18,99± 0,55^{X}	23,36± 0,52*^{X}	26,40± 0,61*^{X}	30,16± 0,68*	27,84± 0,61*	26,06± 0,66*^{X}	29,06± 0,61*	20,08± 0,45^{X}	17,60± 0,53^{X}
	ФАД	22,21± 0,53*	12,49± 0,48^{X}	14,76± 0,47*^{X}	16,84± 0,55*^{X}	21,16± 0,51*	17,21± 0,50*^{X}	16,31± 0,57*^{X}	20,71± 0,44*	14,54± 0,43*^{X}	11,54± 0,46^{X}
	РФ+ ФМН	8,36± 0,34*	6,50± 0,35^{X}	8,60± 0,33*	9,56± 0,39*	9,0± 0,37*	10,63± 0,42*^{X}	9,75± 0,41*	8,35± 0,32*	5,54± 0,36^{X}	6,06± 0,38^{X}
	%ФАД	72,7	65,8	63,2	63,8	70,2	61,8	62,6	71,3	72,4	65,6
Нирки	ЗФ	37,18± 0,82*	20,06± 0,66^{X}	24,57± 0,53*^{X}	27,56± 0,62*^{X}	29,60± 0,61*^{X}	31,24± 0,72*^{X}	28,74± 0,71*^{X}	28,70± 0,69*^{X}	19,43± 0,73^{X}	14,0± 0,36*^{X}
	ФАД	24,24± 0,53*	11,76± 0,49^{X}	13,79± 0,48*^{X}	15,60± 0,47*^{X}	17,31± 0,55*^{X}	19,48± 0,68*^{X}	17,91± 0,56*^{X}	17,62± 0,51*^{X}	10,35± 0,81^{X}	7,75± 0,41*^{X}
	РФ+ ФМН	12,94± 0,35*	8,30± 0,29^{X}	10,78± 0,32*^{X}	11,96± 0,38*	12,29± 0,44*	11,76± 0,37*	10,83± 0,32*^{X}	11,08± 0,38*	9,08± 0,37^{X}	6,25± 0,25*^{X}
	%ФАД	65,2	58,6	56,1	56,6	58,5	62,3	62,3	61,4	53,3	55,3
Мозок	ЗФ	12,82± 0,42*	5,79± 0,33^{X}	9,65± 0,41*^{X}	9,96± 0,43*^{X}	11,85± 0,48*	12,21± 0,51*	10,19± 0,42*^{X}	10,85± 0,42*	5,75± 0,38^{X}	4,83± 0,27*^{X}
	ФАД	8,51± 0,37*	3,45± 0,29^{X}	5,31± 0,32*^{X}	5,61± 0,34*^{X}	7,41± 0,39*	8,72± 0,42*	6,12± 0,35*^{X}	6,81± 0,25*^{X}	3,44± 0,37^{X}	3,12± 0,25^{X}
	РФ+ ФМН	4,31± 0,32*	2,34± 0,31^{X}	4,34± 0,31*	4,35± 0,28*	4,44± 0,52*	3,49± 0,29*	4,07± 0,37*	4,05± 0,33*	2,31± 0,28^{X}	1,71± 0,22^{X}
	%ФАД	66,4	59,6	55,0	56,3	62,5	71,4	60,1	62,8	59,8	64,6

Закінчення таблиці 1

Орган	Показник	Контроль-1	Гіпоксія								
			Контроль-2	ГАМК	ГАМК+ВК	ПГ	ПГ+ВК	ПМ	ПМ+ВК	АГ	АГ+ВК
Серце	ЗФ	29,89± 0,68*	14,86± 0,52^{X}	20,71± 0,51*^{X}	20,82± 0,50*^{X}	31,78± 0,78*	29,56± 0,67*	25,63± 0,72*^{X}	29,38± 0,82*	18,96± 0,73*^{X}	13,07± 0,49*^{X}
	ФАД	21,28± 0,65*	9,58± 0,31^{X}	14,14± 0,42*^{X}	14,15± 0,43*^{X}	20,88± 0,53*	19,89± 0,68*	15,85± 0,66*^{X}	20,66± 0,87*	11,62± 0,52*^{X}	8,65± 0,35^{X}
	РФ+ ФМН	8,61± 0,32*	5,28± 0,21^{X}	6,57± 0,28*^{X}	6,67± 0,29*^{X}	10,90± 0,55*^{X}	9,67± 0,39*	9,78± 0,42*	8,72± 0,44*	7,34± 0,36*	4,42± 0,29*^{X}
	%ФАД	71,2	66,3	68,3	67,9	65,7	67,3	61,8	70,31	61,3	66,1

Примітки: 1) * — відмінності від контролю-2 — достовірні, $p<0,05$; 2) x — відмінності від контролю-1 — достовірні, $p<0,05$.

Таблиця 2

Вплив ГАМК-вміщуючих препаратів, введених щурам окремо і разом з вітамінним препаратом, на вміст окиснених (О) і відновлених (В) форм нікотинамідних коферментів (в мкг/г тканини) в органах щурів після підгострої гіпобаричної (280 мм рт. ст. х 60 хв.) гіпоксії n=8

Орган	Показник	Контроль-1	Гіпоксія								
			Контроль-2	ГАМК	ГАМК+ВК	ПГ	ПГ+ВК	ПМ	ПМ+ВК	АГ	АГ+ВК
Печінка	В	225,4± 2,2*	277,8± 14,1^{X}	210,8± 16,1*	164,6± 17,7*^{X}	212,7± 11,1*	210,0± 10,6*	225,6± 11,9*	210,3± 15,8*	188,3± 16,5*^{X}	204,3± 15,7*
	О	326,9± 6,4*	191,1± 10,6^{X}	290,5± 11,2*^{X}	368,3± 7,8*^{X}	335,8± 13,9*	357,7± 11,9*^{X}	318,4± 13,3*	359,5± 10,7*^{X}	258,1± 9,7*^{X}	247,8± 12,8*^{X}
	О+В	552,3± 25,1*	468,9± 22,0^{X}	501,3± 27,8	533,9± 30,9	548,5± 23,9*	567,7± 26,6	544,0± 25,1*	569,8± 29,8	446,4± 27,3^{X}	452,1± 25,4^{X}

Закінчення таблиці 2

Орган	Показник	Контроль-1	Гіпоксія								
			Контроль-2	ГАМК	ГАМК+ВК	ПГ	ПГ+ВК	ПМ	ПМ+ВК	АГ	АГ+ВК
Нирки	В	162,5± 8,6*	209,5± 11,2^{X}	177,2± 9,2*	160,9± 8,9*	163,2± 8,1*	168,9± 7,6*	168,5± 8,8*	167,0± 10,0*	130,4± 7,4*^{X}	139,0± 8,6*
	О	232,2± 9,2*	113,5± 10,2^{X}	192,8± 8,9*^{X}	219,6± 12,4*	220,4± 13,1*	243,0± 11,4*	223,7± 2.2*	239,5± 13,2*	207,6± 11,4*	173,8± 8,3*^{X}
	О+В	394,7± 15,6*	323,0± 19,1	370,0± 16,1	380,5± 18,1	383,6± 19,5*	412,9± 17,9*	392,2± 8,7*	406,5± 20,7	338,0± 16,8^{X}	312,8± 15,0^{X}
Мозок	В	98,6± 8,4*	133,5± 7,3^{X}	112,4± 7,5	105,6± 16,1	108,4± 7,5*	106,6± 14,4	110,2± 11,3	118,2± 16,8	109,2± 8,1*	107,3± 8,3
	О	141,0± 7,3*	76,4± 9,7^{X}	105,8± 8.7*^{X}	120,6± 11,4*	127,8± 8,2*	130,7± 12,3*	103,6± 10.3*^{X}	108,9± 9,5*^{X}	103,0± 10,8^{X}	97,8± 10,3^{X}
	О+В	239,6± 13,7	210,9± 15.1	218,2± 14,4	226,2± 24,0	236,2± 13,9	237,3± 23,9	213.8± 19,2	227,1± 23,5	212,2± 16,9	205,2± 16,6
Серце	В	145,2± 8,1*	182,8± 10,3^{X}	176,3± 10,1^{X}	180,0± 9,1^{X}	188,4± 10,1^{X}	182,9± 11.6^{X}	187,8± 12,0^{X}	184,6± 9,1^{X}	151,1± 10,1*	179,7± 14,2
	О	290,6± 14,9*	111,2± 10,4^{X}	183,1± 12,4*^{X}	215,8± 12,4*^{X}	250,6± 14,0*	248,9± 12,8*	235,1± 11,9*^{X}	257,7± 12,7*	153,3± 8,6*^{X}	116,2± 10,7^{X}
	О+В	435,8± 20,2*	294,0± 18.4^{X}	359,4± 20,0*^{X}	395,8± 18,7*^{X}	439,9± 21,3*	431,8± 21,9*	423,9± 21,34*	442,3± 19,4*	304,4± 16,7^{X}	296,9± 22,2*^{X}

Примітки: 1) * — відмінності від контролю-2 — достовірні, $p<0,05$; 2) x — відмінності від контролю-1 — достовірні, $p<0,05$.

За введення щурам ГАМК та ГАМК-вміщуючих препаратів (ПМ, ПГ, АГ) різною мірою збільшувався вміст окиснених нікотинамідних коферментів в органах щурів, вміст же відновлених нікотинамідних коферментів зменшувався. В усіх досліджуваних органах найбільший ефект спостерігався за введення щурам ПМ та ПГ. Дія АГ була більш слабкою, ніж ПГ і особливо ПМ.

Додання до пантогаму вітамінної суміші (ПГ+ВК) лише помірно підвищувало ефективність його дії, так само, як і препарат (ГАМК+ВК). Якщо порівнювати ефект самого пантогаму і комплексу (ВК+ПГ), то в більшості органів ефективність їх дії була однаковою.

За введення препарату (ПМ+ВК) вірогідно знижувався вміст відновлених форм у печінці і нирках. Ін'єкції тваринам препарату (АГ+ВК) не призводили до поліпшення впливу АГ на показники обміну нікотинової кислоти.

Висновки:

1. Підгостра гіпобарична (280 мм рт. ст.) гіпоксія викликає зниження рівня усіх форм флавінів та окиснених форм нікотинамідних коферментів.
2. Ін'єкції ГАМК-вміщуючих препаратів — пікамілону (ПМ) та пантогаму (ПГ) — виявляли значний захисний ефект до негативних впливів гіпоксії.
3. Спільне введення ПМ та ПГ разом із вітамінним препаратом (B_1, ФМН, нікотинова кислота) підсилювало захистну дію ГАМК-вміщуючих препаратів.
4. Захисна дія аскорбінату-ГАМК (АГ) та його сумістна дія з ВК за досліджуваного типу гіпоксії була мало ефективною.

Література

1. *Хмелевский Ю. В., Поберезкина Н. Б.* Витамины и возраст человека. — К.: Наукова думка, 1990. — 166 с.
2. *Борец В. М.* Метаболизм витаминов и их применение при ишемической болезни сердца // Вопр. мед. химии. — 1992. — Т. 38, № 4. — С. 37—42.
3. *Карпов Л. М.* Реализация специфической активности функционально связанных витаминов группы В, их производных и комплексов при различных состояниях организма: Дисс. д-ра биол. наук: 14.00.25. Одесса, 1994. — 505 с.
4. *Активность* маркерных ферментов клеточных мембран у крыс при адаптации к гипоксической гипоксии / Маньковская И. Н., Вавилова Г. Л., Харламова О. Н. и др. // Укр. биохим. журн. — 1997. — Т. 69, № 2. — С. 79—87.
5. *Иванова И. А., Бобков Ю. Г., Машковский М. Д.* Теоретические и экспериментальные основы фармакотерапии гипоксии мозга // Фармакологическая регуляция состояний дезадаптации / Бобков Ю. Г. М.: 1986. — С. 82—98.
6. *Карпов Л. М., Шевченко Л. А., Полтавцева Н. В., Будняк О. К., Сорокін А. В.* Вплив вітамінних препаратів на стійкість тварин до гіпоксії // Вісник Одеського державного університету. — Одеса: Астропринт, 1998. — Т. 2 — С. 136—140.
7. *Будняк О. К., Сорокін А. В., Полтавцева Н. В., Карпов Л. М.* Коригуюча дія ГАМК — вміщуючих полівітамінних препаратів на енергетичні показники у щурів з серотоніно-

вою ішемією мозку // Вісник Одеського національного університету. — Одеса: Астропринт, 2001. — Т. 6. Вип. 1. — С. 159—166.
8. *Розанов А. Я., Трещинский А. И., Хмелевский Ю. В.* Ферментативные процессы и их коррекция при экстремальных состояниях. — К.: Здоров'я, 1985. — 208 с.
9. *Хмелевский Ю. В.* Взаимоотношения между витаминами при гипоксических состояниях. // Мат. Всесоюз. симп. "Межвитаминные взаимоотношения". — Гродно, 1976. — С. 184.
10. *Создание* новых лекарственных препаратов на базе витаминов и ГАМК. Пикамилон, пантогам и родственные соединения / Копелевич В. М., Буланова Л. Н., Мариева Т. Д., Гунар В. И. // Пикамилон в современной неврологической и психиатрической практике (клинико-экспериментальные исследования). М.: НПО "Витамины", 1994. — С. 13—23.
11. *Пикамилон* и регуляция нарушений мозгового кровообращения / Мирзоян Р. С., Ганьшина Т. С., Романычева Н. А., Семкина Г. А. // Пикамилон в современной неврологической и психиатрической практике (клинико-экспериментальные исследования). — М.: НПО "Витамины", 1994. — С. 23—27.
12. *Юденфренд С.* Флуоресцентный анализ в биологии и медицине. М.: Мир, 1965 г. — С. 229—230.
13. *Экспериментальная* витаминология / Под ред. Ю. М. Островского. — Минск: Наука и техника, 1979. — 551 с.
14. *Определение* N1-метилникотинамида и никотиновых коферментов в биологических средах флюоресцентным методом / Коденцова О. А., Вржесинская А. А., Сокольников Т. Г. и др. // Вопросы питания. — 1992 г. — Т. 51, № 2. — С. 62—67.
15. *Рокицкий П. Ф.* Биологическая статистика. — Минск: Вышейшая школа, 1967. — 326 с.

Л. М. Карпов, О. В. Запорожченко, О. К. Будняк, А. В. Сорокін
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра физиологии человека и животных,
кафедра биохимии
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина
e-mail: l_karpov@yandex.ru

ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГАМК-СОДЕРЖАЩИХ И ВИТАМИННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА УРОВЕНЬ ФЛАВИНОВЫХ И НИКОТИНАМИДНЫХ КОФЕРМЕНТОВ У КРЫС С ПОДОСТРОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИЕЙ

Резюме

Изучено влияние подострой гипобарической гипоксии (280 мм рт. ст.) на содержание флавиновых и никотинамидных коферментов в органах крыс. Показано, что такая гипоксия вызывает снижение уровня всех форм флавинов и окисленных форм никотинамидных коферментов. Защитное действие ГАМК-содержащих препаратов — пикамилона и пантогама — было эффективным, а совместное их введение вместе с витаминным препаратом (B_1, ФМН, никотиновая кислота) увеличивало этот эффект. Защитное действие аскорбината-ГАМК и его сочетание с витаминным препаратом при этом типе гипоксии было незначительным.

Ключевые слова: рибофлавин, никотинамидные коферменты, витамины.

L. M. Karpov, O. V. Zaporozhchenko, O.K. Budnyak, A. V. Sorokin
I. I. Mechnikov's Odessa National University,
Department of Human and Animals Physiology,
Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya Str., 2, Odessa, 65026, Ukraine
e-mail: l_karpov@yandex.ru

THE ACTION OF PROTECTION OF GABA-CONTAINING PREPARATIONS AND COMPLEX OF VITAMINS ON FLAVIN AND NIKOTINAMID COENZYMES CONCENTRATIONS IN THE RATS WITH PARASHARP GIPOBARIC HYPOXIA

Summary

The effect of parasharp gipobaric (280 mm. m. cl.) hypoxia on flavin and nikotinamid coenzymes concentrations in rats was studied. It was shown that parasharp gipobaric hypoxia causes the reduction of level of all flavin forms and oxidized forms of nikotinamid coenzymes. The defense action of GABA-containing preparation — Picamilone and Pantogam — was efficient, but their injections together with complex of vitamins (B_1, FMN, nicotic acid) increase this effect. The defensive action of ascorbic-GABA and its combination with complex of vitamins was non-effective under this type of hypoxia.

Keywords: riboflavin, nikotinamid coenzymes, vitamin complex.

ІСТОРІЯ НАУКИ ТА УНІВЕРСИТЕТУ

УДК 378.4 (477.4): [575.8+372.8]

Н. М. Пашковская
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
биологический факультет, кафедра ботаники
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ЗАБЫТЫЕ ИМЕНА: ГЕОРГИЙ ИОСИФОВИЧ ПОТАПЕНКО

В литературе по истории одной из старейших кафедр ОНУ — кафедры ботаники есть непонятный с первого взгляда пробел в 13 предвоенных лет: 1928—1941. Это объясняется тем, что в годы войны (1942—1943) профессор Г. И. Потапенко, который не смог своевременно эвакуироваться, остался в Одессе. Желая спасти кафедру и ботанический сад от разграбления, он согласился работать в университете, а затем вместе с отступающими оккупационными румынско-немецкими войсками выехал в Румынию. Там он был арестован и осуждён по статье 58 "а" на 10 лет с поражением в правах на 3 года. После досрочного освобождения он в 1954 г вернулся в Одессу ещё 28 лет пробыл на пенсии. Умер в 1982 году.
Ключевые слова: Одесский университет, биологический факультет, история, Г. И. Потапенко

Кафедра ботаники — одна из старейших кафедр Одесского университета. Она является преемницей ботанического кабинета Ришельевского лицея, на базе которого в мае 1865 г. состоялось торжественное открытие Новороссийского университета.

История университета достаточно хорошо и разносторонне освещена в юбилейных изданиях [1, 2, 3, 4], в которых содержится информация о деятельности Новороссийского университета до Октябрьской революции (1965—1917) и до 1919 года, когда университет прекратил своё самостоятельное существование по решению властных структур как "наиболее консервативная форма" высшего образования. Неплохо отражён период с 1920 по 1933 годы, когда на базе университета и других высших учебных заведений было создано несколько различных институтов, объединённых в ИНО (Институт Народного Образования). Очень подробно описана история всех кафедр, работа учебно-вспомогательных учреждений (Ботанического сада, Палеонтологического и Минералогического музеев и пр.) после восстановления Одесского университета в 1933 г. Однако, при описании истории кафедры ботаники (морфологии и систематики растений) после подробной характеристики её работы в 1923—1928 гг., сразу же излагается деятельность кафедры ботаники во время эвакуации университета в 1941—1945 гг. и после возвращения его в Одессу в 1944 г. О деятельности кафедры в период с 1928 по 1941 г. (до начала войны) информации в литературе практически нет. Неполная и, на наш взгяд, односторонняя ин-

© Н. М. Пашковская, 2004

формация представлена о работе кафедры в период войны и первых послевоенных лет.

Цель настоящей статьи — заполнить эту "брешь" в истории кафедры морфологии и систематики растений, из истории которой выпало 13 лет плодотворной деятельности под руководством профессора Г. И. Потапенко. Мы полагаем, что настало время возвратить имя этого учёного из искусственно созданного небытия, привлечь внимание к его работам, которые в своё время и в настоящий период представляются актуальными и дают ценную информацию для развития ботанической науки и проведения мониторинга региональной флоры и растительности.

Профессор Г. И. Потапенко начал работу в высшей школе ещё в 1920 году в ИНО, руководством которого в 1928 году был назначен заведующим кафедрой морфологии и систематики растений. После отъезда из Одессы профессора Д. О. Свиренко, Г. И. Потапенко заведовал кафедрой 13 лет, из них 8 лет — в восстановленном в 1933 году Одесском университете, вплоть до начала Великой Отечественной войны.

Георгий Иосифович Потапенко — воспитанник Новороссийского университета (1907—1911 гг.). Окончил его с дипломом 1 степени и золотой медалью за научную студенческую работу "Физико-географичекий очерк Хаджибейского лимана и его окрестностей...". Был учеником выдающегося геоботаника Г. И. Танфильева и известного флориста Н. М. Зеленецкого.

Проф. Г. И. Танфильев хотел включить выпускника Г. И. Потапенко в состав профессорских стипендиатов университета, но Министерство Народного Просвещения не утвердило эту кандидатуру. После этого Г. И. Потапенко успешно окончил педагогические курсы, где учился у таких крупных методистов как В. В. Половцов, Г. И. Танфильев, Н. Н. Ланге и др., а затем начал педагогическую деятельность в средних учебных заведениях г. Одессы, в которых учительствовал почти 10 лет.

Во время летних каникул он с экскурсиями Крымско-Кавказского Горного Клуба объездил почти всю европейскую часть России, собирал гербарии и обрабатывал их с помощью своих учителей Г. И. Танфильева и Н. М. Зеленецкого, не теряя таким образом связей с университетом. В 1920 году Г. И. Потапенко перешёл на работу в Высшую школу, где проработал более 20 лет.

В 20-ые годы он руководил естественно-географическими экскурсиями Пролеткульта Одесского Комиссариата Народного Просвещения. Работал методистом Губнаробраза рядом с такими известными методистами как Б. Е. Райков, В. И. Селинов, В. В. Стратен, А. Г. Готалов-Готлиб. Последний дал Георгию Иосифовичу такую характеристику: "... блестящий лектор и выдающийся методист в области ботаники, пользовавшийся большой популярностью среди студенчества... принимал активное участие в общественной жизни не только университета... вошёл в состав той группы Одесских методистов, которые

на протяжении ряда лет руководили крайне важным делом переподготовки учителей Одесской области и повышения их квалификации".

В конце 20-х годов по поручению Комиссии по охране природы, руководителем которой в то время являлся будущий профессор А. А. Браунер, Г. И. Потапенко обследовал ряд парков Украины с целью охраны этих парков, в том числе Весело-Боковеньковский, Трикратский, Мостовский, Гетьмановский и др.

В 30-е гг. он с помощниками выполнял задания Народного Комиссариата Земледелия Украины и его Одесской мелиоративной конторы.

В 1930 обеспечил ботаническую часть комплексного обследования Барабойской долины Овидиопольского района Одесской области.

В 1931 г. осуществил геоботаническое обследование Новомиргородского района Одесской области.

В 1933—34 гг. Потапенко с сотрудниками принимал участие в комплексной экспедиции Наркомзема Украины по агроинвентаризации земель Спартаковского (Гросслибентальского, сейчас Великодолинского) и Николаевского районов. Геоботаническая часть этой работы, которая выполнялась под руководством и при непосредственном участии Г. И. Потапенко, представляла рукопись объёмом 10 печатных листов с картами-трёхверстками. Она была положительно апробирована 7.08.1934 года Украинской Академией сельскохозяйственных наук в Харькове и передана в район. Публикации работа не подлежала.

Г. И. Потапенко постоянно сотрудничал с горзелентрестом г. Одессы, помогая его руководителю П. Н. Сигиде в создании новых парковых насаждений. Планировалось озеленение приморских склонов, в то время почти лишённых древесной растительности. Г. И. Потапенко сотрудничал с карантинной станцией и ветеринарной инспекцией, был консультантом судебной экспертизы. И всё это он совмещал с большой педагогической нагрузкой и научной работой по исследованию растительности пересыпей лиманов северного Причерноморья.

В высшей школе профессор Потапенко читал в разное время 15 общих и специальных курсов по ботанике и географии растений, в том числе геоботанику, фитоценологию, палеоботанику, филогению, растительность СССР, антропогеографию, методику преподавания естествознания и географии, природоведение и родиноведение.

Он помогал академику В. И. Липскому — директору (1928—33 гг.) и научному руководителю (до 1937) ботанического сада — в руководстве четырьмя аспирантами ботсада (Т. М. Гольд, П. А. Сатановский, И. И. Погребняк, А. З. Жаренко).

На кафедре у Г. И. Потапенко было 5 аспирантов (Л. А. Шапошникова, П. И. Гержидович, Ф. Е. Кулик, М. В. Домбровская, Е. А. Гурская). Шесть его аспирантов защитили кандидатские диссертации сразу же после окончания аспирантуры, до начала войны. Четверо его учеников защитили кандидатские диссертации после окончания войны — М. В. Домбровская (Одесса), Т. А. Якубовская (Москва), И. В. Бережной (Львов), А. А. Щербина (Львов).

Среди учеников Г. И. Потапенко — 2 доктора биологических наук, 11 кандидатов, включая С. Г. Кисель-Бесфамильную — старшего преподавателя кафедры естествознания Тираспольского пединститута, сотни хороших, достойных преподавателей и научных работников, не говоря уже о тех, кто прослушав его лекции, побывав с ним на экскурсиях, сохранили о нём добрую память и научились бережному, трепетному отношению к природе.

За два десятилетия Г. И. Потапенко опубликовал около 50 работ в различных изданиях, из них 19 — методических, 13 — по травянистой флоре, 10- по древесной растительности, 3 — по персоналиям, 2 — популярные статьи, 5 — газетных статей. Конец 30-х годов был для профессора Г. И. Потапенко особенно плодотворным. В различных изданиях были напечатаны 13 его работ, в том числе шесть — в 1940—41 гг.

Немало рукописей научных статей, написанных Г. И. Потапенко в предвоенные годы, во время Великой Отечественной войны бесследно исчезли.

В 1931—1941 гг. Г. И. Потапенко был заведующим кафедрой систематики и морфологии растений, директором ботанического сада, проректором по учебной работе университета. Несмотря на это, в мемориальной литературе деятельность Г.И. Потапенко отражена лишь вскользь и очень неполно.

В книге "Одесский университет за 75 лет" (1865—1940), в части 3 § 6 — упоминается, что из числа сотрудников университета были избраны в Совет депутатов трудящихся академик Д. К. Третьяков, профессор Добролюбский, проф. Г. И. Потапенко [2].

В издании "Історія Одеського університету за 100 років" в период с 1928 по 1941 гг. нет упоминаний ни о кафедре ботаники, ни о её заведующем проф. Г. И. Потапенко [1].

В издании "Одесский университет 1865—1990" (за 125 лет) вскользь говорится, что Г. И. Потапенко по поручению Одесского комитета по охране природы изучал Савранские леса и парки Украины [3].

В книге "История Одесского университета 1865—2000" (за 135 лет) нет никакого упоминания о существовании кафедры систематики растений и его заведующем проф. Г. И. Потапенко [4], хотя в послевоенных изданиях о нём можно найти достаточно упоминаний [5—11].

Этот парадокс можно объяснить тем обстоятельством, что во время Великой Отечественной войны проф. Г. И. Потапенко, по независящим от него причинам, эвакуировался поздно, попал в кольцо, сомкнувшееся вокруг осажденной Одессы, а, вернувшись в Одессу, оказался на временно оккупированной румынами территории. Желая сохранить оставшееся имущество университета, в том числе ботанический кабинет и ботанический сад от разграбления, и уступая просьбам коллег, Г. И. Потапенко согласился возобновить работу в университете оккупированного города. Он был назначен деканом "факультета точных наук университета" и директором ботанического сада.

В этой статье не ставится задача оценить поведение проф. Г. И. Потапенко во время оккупации, поскольку об этом мало известно, однако нельзя забывать ту пользу, которую принёс этот человек Одесскому университету.

К сожалению, боясь наказания за свою работу в период оккупации, к моменту прихода Советских войск Потапенко выехал в Румынию, где был арестован и осуждён по статье 58 "а" "на 10 лет с последующим поражением в правах на три года за сотрудничество с оккупационными войсками", хотя он никогда и нигде не выступал ни с осуждением советского строя, ни с восхвалением оккупационного. Он обучал ботанике своих студентов, среди которых были и комсомольцы, и по мере возможности помогал окружающим его людям выжить. В частности, устраивал их на работу в университет, ботсад, другие учреждения. Наказание Г. И. Потапенко отбывал в различных лагерных подразделениях, исправительно-трудовых лагерях в Одессе. Уже этот факт свидетельствует о том, что вина его перед Родиной была не столь велика.

В 1954 году Потапенко был освобождён. Поражение в правах и глухота не позволили ему продолжить любимую работу в университете, но он прожил ещё 28 лет, общаясь с людьми, которые не отвернулись от него, вёл научную и дружескую переписку [12].

5.01.1982 г. Г. И. Потапенко окончил свой трудный жизненный путь.

Заключение прокуратуры Одесской области о реабилитации датируется 15 ноября 1995 года [13].

Современная актуальность работ проф. Г. И. Потапенко видна из того, что находящиеся в научной библиотеке ОНУ рукописи его работ об истории кафедры ботаники Одесского университета, об истории университетского ботанического сада, докторская диссертация сейчас активно используются как студентами, так и серьёзными специалистами. Его работы по региональной флоре и растительности дают возможность современным исследователям для проведения мониторинга.

Литература

1. *Історія* Одеського університету за 100 років. — К.: Видавництво Київського університету, 1968. — С. 168.
2. *Одесский* университет за 75 лет (1865—1940). — Одесса: ОГУ, 1940. — С. 182.
3. *Одесский* университет 1865—1990 (за 125 лет). — Киев: Лыбидь, 1961. — С. 63.
4. *Історія* Одеського університету (1865—2000) — Одеса: Астропринт, 2000. — С. 89—90.
5. *Погрібняк І. І.* Дослідження кафедри морфології та систематики рослин ОДУ ім. І. І. Мечникова за 40 років Радянської влади // Укр. ботан. журн. — 1958. — 15, № 4. — С. 107—109.
6. *Потапенко Г. И.* Материалы по истории ботаники в Одесском университете // Тр. Ин-та истории естествознания и техники АН СССР. — 1960. — 41. — вып. 10: Из истории биологических наук. — С. 44—62.
7. *Потапенко Г. И.* История кафедры ботаники Одесского государственного университета за 75 лет существования (1865—1840). — Одесса, 1962 (Рукопись хранится в НБ ОНУ).

8. *Котов М. І., Харкевич С. С.* Досягнення у вивченні флори, систематики вищих рослин і рослинних ресурсів України // Укр. ботан. журн. — 1967. — Т. 24, № 5. — С. 7,10.
9. *Доброчаева Д. Н., Мокрицький Г. П.* В. И. Липский. — К.: Наук. думка, 1991. — 215 с.
10. *Коваленко С. Г.* Ботаника // История развития науки в Одессе. — Одесса: Титул, 1995. — С. 154.
11. *Пашковська Н. М.* Потапенко Георгій Йосипович // Професори Одеського (Новоросійського) університету: Біографічний словник. — Т. 3. — Одеса: Астропринт, 2000. — С. 486—489.
12. *Материалы* архива семьи.
13. *Материалы* УСБ Украины и Одесского областного архива.

Н. М. Пашковська
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
біологічний факультет, кафедра ботаніки
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ЗАБУТІ ІМЕНА: ГЕОРГІЙ ЙОСИПОВИЧ ПОТАПЕНКО

Резюме

У літературі з історії однієї з найстаріших кафедр ОНУ — кафедри ботаніки є "біля пляма" у 13 передвоєних років: 1928—1941. Це пояснюється тим, що в роки війни (1942-43) Г.Й.Потапенко, який не зміг своєчасно виїхати, залишився в Одесі. Намагаючись врятувати кафедру і ботанічний сад від пограбування, він погодився працювати в університеті, а потім з відступаючими румунсько-німецькими військами виїхав до Румунії. Там його було заарештовано і засуджено за статтею 58"а" на 10 років з ураженням в правах на 3 роки. Після дострокового звільнення він у 1954 році повернувся в Одесу, ще 28 років прожив на пенсії. Помер у 1982 році. Посмертно реабілітований у 1995 році.

Ключові слова: Одеський університет, біологічний факультет, історія, Г. Й. Потапенко

N. M. Pashkovskaya
Odessa National Mechnikov University, Departments of Botany
Odessa National University, Department of Botany,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

THE FORGOTTEN NAMES: GEORGY I. POTAPENKO

Summary

There is a gap of 13 years chair work (1928 -1941) in the University jubilee editions of the Botany Chair description. The fact that professor G. I. Potapenko guided the chair is the explanation. Potapenko couldn't be evacuated and remained in occupied Odessa. In order to protect and keep safe university botanic studies and botanic garden he agreed to work at the University. When the occupants were retreating they carried the professor with them. Later he was arrested and sentenced to 10 years plus deprivation of civil rights. G. I. Potapenko was set free in 1954 and returned to Odessa where he died in 1982. He was fully exonerated after his death in 1995.

Keywords: Odessa University, the Department of Biology, history, G. I. Potapenko.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ

1. ПРОФІЛЬ ЖУРНАЛУ

1.1. "Вісник Одеського 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 надрукувати 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 (Cyr), кегль 14, відстань між рядками 1,5 інтервалу, 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 редколегією.

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, вчений 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 розміщуються у тексті статті.
10. На окремому аркуші подаються резюме (російською та англійською мовами для україномовних статей; українською та англійською — для російськомовних), оформлених 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. "Бюлетень 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 підсах під рисанком. На осях абсцис і ординат рисунка зазначається лише величина, що вимірюється, і її розмірність в одиницях СІ (%, мм, г і т. п.).

4.7. У розділі "Результати досліджень" (якщо цей розділ не поєднаний з "Аналізом результатів", див. 2.4) необхідно викласти лише виявлені дані 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 фактами, порівняти отриману інформацію з даними літератури і наголосити на виявлених 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 стисла 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) пода-

ється 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 відхиляти рукописи, якщо вони не відповідають вимогам "Вісника ОНУ". Рукописи статей, що прийняті до публікування, авторам не повертаються.

Здано у виробництво 20.02.2004. Підписано до друку 29.06.2004. Формат 70×108/16. Папір офсетний. Гарнітура SchoolBook. Друк офсетний. Ум. друк. арк. 24,50.
Тираж 300 прим. Зам. № 168.

Надруковано у друкарні видавництва "Астропринт"
65026, м. Одеса, вул. Преображенська, 24.
Тел.: (0482) 26-98-82, 26-96-82, 37-14-25
www.astroprint.odessa.ua

Odessa National University Herald

•

Вестник Одесского национального университета

•

ВІСНИК
ОДЕСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ

Том 9 • Випуск 1 • 2004

Біологія

Українською та російською мовами

Технічний редактор *Г. О. Куклєва*