

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 11. Випуск 9

Біологія

2006

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

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

Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації: серія КВ №11455-328Р від 07.07.2006 р.

Мова видання: українська, російська

Адреса редколегії:

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

Зміст

БІОХІМІЯ

А. М. Андриевский

Половой диморфизм по экспрессии гидролаз эфиров карбоновых кислот в популяциях *Drosophila melanogaster* 7

І. Л. Вовчук

Виділення та очищення карбоксипептидази А з тканини яєчника методом гель-хроматографії 18

С. Г. Каракіс, Т. І. Лавренюк, О. Г. Драгоєва, В. А. Сагаріц, Л. М. Карпов

Особливості регуляції глутамінсинтезної активності у мутантних штамів *Spirulina platensis* з надсинтезом метіоніну 31

О. О. Кокошкіна, О. В. Запорожченко

Активність лактатдегідрогенази, малатдегідрогенази і алкоголь-дегідрогенази в тканинах щурів за введення нікотинової кислоти 38

О. І. Станєв, О. В. Запорожченко, Л. М. Карпов, С. Г. Коломійчук, О. О. Кокошкіна, Л. А. Преснова

Вплив різних штамів спіруліни на вміст лактату, малату та пірувату в органах щурів за гемолітичної анемії 45

К. А. Філіпцова, І. Л. Вовчук

Виділення та очищення карбоксипептидази А з тканин молочної залози методом висолення сульфатом амонію 52

БОТАНІКА, ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

Т. В. Васильєва, С. Г. Коваленко

Аналіз таксономічної структури флори Південної Бессарабії та суміжних територій 63

Ю. С. Назарчук

Особливості ліхенофлори заплавної лісів північно-західного Причорномор'я 70

В. В. Немерцалов, В. В. Петрушенко, Т. В. Васильєва, О. В. Богуславенко

Структура дендрофлори парку ім. О. М. Горького 77

О. М. Попова

Сучасний стан дендрофлори Гетьманівського дендропарку 85

ГІДРОБІОЛОГІЯ І ЕКОЛОГІЯ

М. М. Джуртубаєв, В. В. Заморев, О. В. Пенева

Зообентос озера Кагул 1. Таксономический состав и распределение видов 95

О. А. Семенова, В. Л. Базелян, Г. Ю. Коломейченко,

Абдул Манаф Юссеф

Токсичность донных отложений озера Кугурлуй для различных видов пресноводных водорослей 102

ГЕНЕТИКА І ЦИТОЛОГІЯ

С. В. Белоконь, В. Н. Тоцкий

Кoadaptация генов локусов *cn*, *vg* и *Adh* как механизм адаптации мутантов *D. melanogaster* Meig. 113

С. В. Белоконь, Н. Д. Хаустова, И. А. Бондаренко Приспособленность мутантов <i>cn</i> и <i>vg</i> в лабораторных популяциях <i>Drosophila melanogaster</i>	121
В. А. Топтиков, Л. Ф. Дьяченко, В. М. Тоцький, Л. Т. Бабаянц Стан ген-ензимних систем паростків пшениці за ураження їх збудником бурої листової іржі	128
Т. Г. Трочинська, Т. Ф. Бланковська Морфологічні особливості клітин антиподального комплексу деяких форм злаків	140
ЗООЛОГІЯ	
О. С. Дятлова Особливості поліморфних популяцій бабок південного заходу України	151
Д. А. Ківганов, С. Я. Бурдейна, В. П. Стойловський Пір'яні кліщі роду <i>Proctophyllodes</i> Robin, 1868 (Acari: <i>Proctophyllodidae</i>) птахів, що мігрують через острів Зміїний	160
М. О. Сон Напрямки експансії неендемичних видів молюсків у внутрішні води України	169
В. А. Трач Паразито-хазяїнні зв'язки кліщів родини Canestriniidae (Acari: Astigmata) в Україні та Молдові	174
МІКРОБІОЛОГІЯ	
О. Л. Рахімова, Ю. Б. Чистякова Біомаса <i>Mucococcus xanthus</i> у якості біосорбенту кадмію	183
ТЕОРЕТИЧНА БІОЛОГІЯ	
А. В. Колесников, Л. М. Карпов Про структуру динамічних процесів у моделях біологічних систем	191
А. В. Мацюра Особенности математического анализа динамики численности птиц	199
ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН	
О. В. Денисенко, Т. В. Бузика, Л. І. Сьомік, Л. М. Карпов Особливості нейрональної активації сенсомоторної кори щурів при аплікації глутамату	209
ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ	219

БІОХІМІЯ



УДК 575.152.31:591.3/.4/.8:595.773.4

А. М. Андриевский, канд. биол. наук, доц., докторант
Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,
кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина,
e-mail: andriev_scar@mail.ru

ПОЛОВОЙ ДИМОРФИЗМ ПО ЭКСПРЕССИИ ГИДРОЛАЗ ЭФИРОВ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ В ПОПУЛЯЦИЯХ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Методом компьютерной денситометрии определяли уровень активности электрофоретических фракций гидролаз эфиров карбоновых кислот самцов и самок *Drosophila melanogaster*, принадлежащих *Одесской, Южненской, Уманской, Каневской и Тверской* популяциям. Множественные молекулярные формы ферментов в блоках полиакриламидного геля выявляли с помощью реакции одновременного азосочетания диазония с α - и β -нафтолами, образующимися в результате гидролиза α - и β -нафтилацетатов. Установлены половые различия в экспрессии ацетилхолинэстеразы, ацетилэстеразы, а также в проявлении активности S- и F-аллозимов β -специфичной эстеразы. Показаны межпопуляционные различия по изучаемым биохимическим признакам. Рассматривается целесообразность обусловленной полом изменчивости в экспрессивности основных карбоксиэстераз плодовой мушки.

Ключевые слова: популяции *Drosophila melanogaster*, активность гидролаз эфиров карбоновых кислот, половой диморфизм.

Многочисленные данные указывают на то, что половой диморфизм, проявляющийся разной степенью выраженности признаков и свойств у гомогаметных и гетерогаметных организмов, является результатом отбора и имеет большое адаптивное значение [1–5]. Среди организменных адаптаций, отражающих половые различия, более исследованы морфологические и этологические, тогда как биохимические механизмы адаптации, несмотря на их важность, остаются слабо изученными [5–8].

К сожалению, в большинстве случаев при описании диморфных признаков или свойств даётся их качественная характеристика, которая не позволяет судить о степени выраженности признака у самок и самцов. Так, имеются сообщения о половых различиях в проявлении активности некоторых эстераз у термитов и отдельных видов рыб [9–11]. Обнаруженные у дрозофил *virilis* и *melanogaster* половые различия по проявлению активности некоторых эстеролитических ферментов (в частности, β -эстеразы), как полагают, обусловлены более высоким их содержанием в генеративных тканях самцов [5, 12–15].

В данной работе преследовали цель сравнить количественные показатели экспрессии основных форм карбоксиэстераз репродуктивно способных самок и самцов *Drosophila melanogaster* дикого типа, представляющих обособленные лабораторные популяции разного экологического происхождения и находящихся в стандартных условиях существования.

Материалы и методы исследования

Экспериментальным материалом служили половозрелые самцы и самки одного поколения, отобранные из лабораторных популяций *Одесская*, *Южненская*, *Уманская*, *Каневская* и *Тверская*. Каждая популяционная группа представляла собой дикий тип *Drosophila melanogaster* Meigen и характеризовалась доминантными проявлениями признаков цвета глаз, формы крыльев и окраски тела. Мух содержали на обычной питательной среде при температуре 25°C [16]; перед экспериментом наркотизировали диэтиловым эфиром и поштучно гомогенизировали в 10 мкл 0,1 М глицин-NaOH буфера pH 9,0 с 1% тритона X-100. Гомогенаты тканей центрифугировали на холоде при 10 000 g в течение 15 мин, после чего надосадочные жидкости отбирали и смешивали с 5 мкл 0,01% раствора бромфенолового синего, приготовленного на 60% растворе сахарозы. Полученные ферментсодержащие экстракты подвергали щелочному электрофорезу в 10% полиакриламидном геле. После электрофоретического разделения гелевые блоки с локализованными в них ферментами (аллозимами *a* и *b* эстеразы № 1, эстеразой № 2 и эстеразой № 3) отмывали в дистиллированной воде и выдерживали 10 мин в нейтральном буфере. Далее гелевые пластины инкубировали 20 мин при 25°C в 50 мл 0,1 М трис-глицинового буфера pH 7,4, содержащего по 25 мг α - и β -нафтилацетатов и 50 мг соли диазония — прочного синего В. Реакцию ферментативного расщепления субстратов останавливали заливкой гелей кипящей дистиллированной водой. Отмытые пластины гелей сканировали во влажном состоянии при высокой степени разрешения (300 dpi), а их цифровые изображения сохраняли в формате BMP. Созданные сканнограммы денситометрировали с помощью специальной компьютерной программы "АнаИС" (Поджарский М. А., Рыбалка Д. Г., 2004 г.). Полученные данные по оптической плотности (ΔD_0 , относительные единицы) для каждой фракции карбоксиэстераз использовали для нахождения среднего значения — $\overline{\Delta D_0}$ и стандартной ошибки — $s_{\overline{\Delta D_0}}$ при $n = 3 - 15$.

Совокупность количественных и качественных характеристик электрофореграмм и денситограмм (количество электрофоретически различающихся форм ферментов, интенсивность окраски отдельных полос, относительную и удельную активность отдельных фракций) мы обозначили как «экспрессивность» фермента. Для опреде-

ления удельной активности показания денситометра ($\overline{\Delta D_0}$) относили к 1 мг белка экстракта тканей или к 1 мг массы одной исследуемой особи. Относительную активность представляли как $\overline{\Delta D_0}$ в расчете на одного самца или самку.

С целью определения удельной активности фермента находили среднюю массу ($\bar{m} \pm s_{\bar{m}}$ из $n = 25$) одной особи соответствующего пола, а также средний показатель содержания белка ($[\bar{P}] \pm s_{[\bar{P}]}$ из $n = 25$) в экстракте, полученном от одной самки или одного самца [17]. Коэффициенты различий (Kd) по сравниваемым показателям находили как частное от деления большего числового значения активности фермента самцов или самок на меньшее. Достоверность наблюдаемых различий в активности карбоксиэстераз оценивали с помощью критерия Стьюдента [18]. Статистическую обработку первичных данных осуществляли с помощью компьютерной программы "Excel". В работе использованы реактивы квалификации «х. ч.» и «о. с. ч.» фирм "Reanal" (Венгрия), "Chemapol" (Чехия), "Acros organics" (США), "Ferak" (Германия), а также установка для вертикально-пластинчатого электрофореза ("VE-4", Россия).

Автор выражает благодарность к. б. н., доценту кафедры генетики Киевского национального университета имени Т. Г. Шевченко И. А. Козерецкой за любезно предоставленные линии дрозофил Каневской, Уманской и Тверской популяций.

Результаты исследования и обсуждение

Из приведенных на рис. 1 электрофореграмм и соответствующих им денситограмм видно, что самцы и самки всех изучаемых популяций характеризуются наличием трёх основных высокоактивных карбоксиэстераз, которые отличаются друг от друга не только электрофоретической подвижностью, но и субстратной специфичностью по отношению к различным одновременно используемым субстратам. Как установлено, ферменты № 2 и № 3 обладают α -стереохимической специфичностью, расщепляя преимущественно α -нафтилацетат, тогда как фермент № 1 проявляет β -стереоспецифичность, гидролизуя исключительно β -нафтилацетат. Кроме того, благодаря разнообразию аллозимных форм (1а и 1б) β -специфичной эстеразы, как среди самок, так и среди самцов встречаются представители тех или иных фенотипических классов.

Как свидетельствуют данные, представленные в табл. 1, показатели относительной активности всех обнаруживаемых форм ферментов самцов (за исключением ацетилхолинэстеразы самцов Каневской и Тверской популяций), превосходят активность соответствующих эстераз самок в 1,1–2,2 раза. Наибольшие различия прослеживаются по признаку выраженности медленноподвижного S (1б) и быстроподвижного F (1а) аллозимов эстеразы 1. Вполне

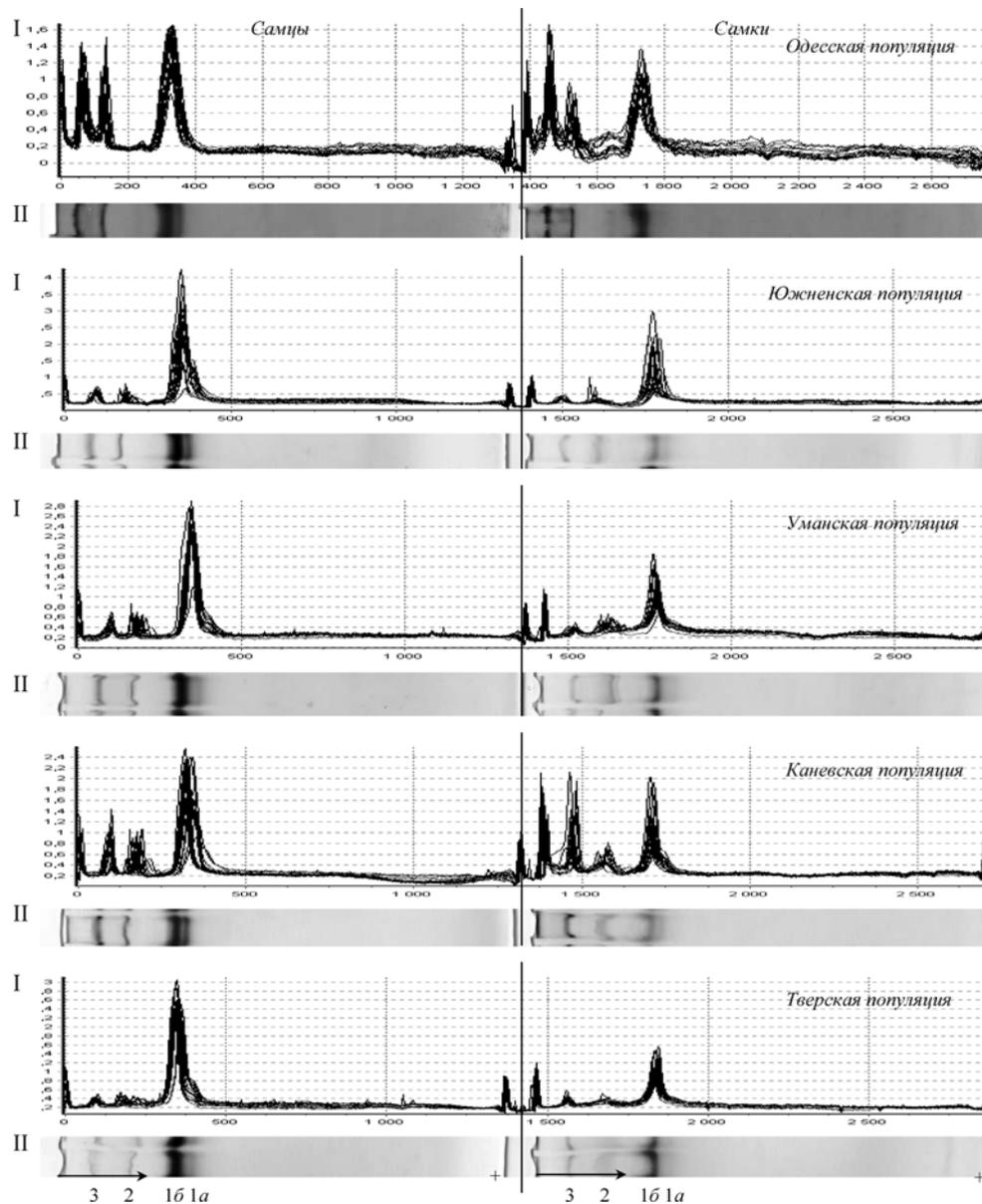


Рис. 1. Различия экспрессии гидролаз эфиров карбоновых кислот у самцов и самок имаго разных популяций *Drosophila melanogaster*, выявляемые по α - и β -нафтилацетатам:

I — денситограммы: по оси x — длины треков двух сравниваемых гелевых пластин (пиксели), по оси y — оптическая плотность (ΔD_0 , относительные единицы); представлены данные по 15 трекам. II — электрофореграммы: 1а (б) — 3 — порядковые номера молекулярных форм ферментов; стрелкой указано направление движения ферментов в геле; представлен один из 15 треков соответствующего гелевого блока.

вероятно, что эти формы эстеразы синтезируются у самцов в гораздо большем количестве, обеспечивая более интенсивные, по сравнению с самками, процессы метаболизма сложных эфиров карбоновых кислот, что в свою очередь можно рассматривать как своеобразный механизм адаптации самцов к химическим факторам внутренней и внешней среды. Интересно и то, что независимо от разной популяционной принадлежности, как у самок, так и у самцов наблюдается довольно строгая корреляционная зависимость уровня активности одного фермента от другого. Кроме того, сравнительный анализ активности ацетилхолинэстеразы (фермент № 3) как самок, так и самцов указывает на слабые межпопуляционные различия по этому признаку для мух линий *Южненская*, *Уманская* и *Тверская* (показатели относительной активности этого фермента ($\overline{\Delta Do}/ex$) довольно близки либо практически совпадают), тогда как самки и самцы *Каневской* и *Одесской* популяций значительно превосходят представителей других групп. Сходная закономерность прослеживается и по активности ацетилэстеразы (фермент № 2): в этом случае снова выделяются *Одесская* и *Каневская* популяции, самцы и самки которых проявляют более высокую активность при высокой степени сходства активности этого фермента у мух остальных популяций.

Несмотря на закономерные половые различия в активности S-аллозима эстеразы 1 (1б), характерные для всех исследуемых линий дрозофилы, практически отсутствуют достоверные межпопуляционные расхождения по этому признаку. Исключение составляют только самцы *Одесской* популяции, у которых отмечен более низкий уровень активности S-аллозима по сравнению с самцами других популяционных групп. Что касается экспрессии F-аллозима той же эстеразы 1, то её вариабельность более ярко представлена у самцов: показатели относительной активности в этом случае для особей разных линий колеблются в диапазоне от 0,553 до 1,212 единиц в расчёте на одну особь. Как видно из табличных данных, половые различия по показателям удельной активности ($\overline{\Delta Do}/\bar{m}$, относительные единицы в расчёте на 1 мг массы одной особи) по сравнению с параметрами относительной активности для всех определяемых эстераз оказываются ещё более выраженными; особенно это касается проявления активности S- и F-аллозимов эстеразы 1: диапазон изменения коэффициента отличия (*Kd*) по этому признаку для разных популяций составляет от 2,3 до 4,8. Обнаруживаются и межпопуляционные различия. Так, максимальным уровнем активности эстеразы 1 обладают самцы *Уманской* популяции, минимальным — самцы *Одесской* и *Каневской* линий. Наряду с этим, у сравниваемых популяций, за исключением *Тверской*, различия в удельной активности ацетилэстеразы (фермент № 2) едва заметны. Что касается уровня выраженности ацетилхолинэстеразы (фермент № 3), то по этому параметру значительно выделяют-

Сравнительная характеристика активности гидролаз эфиров карбоновых

Имаго				
Самцы				
<i>Одесская</i>				
<i>Mff</i>	<i>Rf</i>	$\overline{\Delta D_o} / ex$	$\overline{\Delta D_o} / \bar{m}$	$\overline{\Delta D_o} / [\bar{P}]$
1a	0,270 ± 0,062	0,553 ± 0,062	0,922 ± 0,103*	0,149 ± 0,017*
1б	0,246 ± 0,001	1,350 ± 0,064*	2,250 ± 0,107*	0,365 ± 0,017*
2	0,097 ± 0,001	0,971 ± 0,076*	1,618 ± 0,127*	0,262 ± 0,021*
3	0,050 ± 0,001	1,110 ± 0,052	1,850 ± 0,087*	0,300 ± 0,014*
<i>Южненская</i>				
1a	0,142 ± 0,001	0,951 ± 0,131**	1,367 ± 0,187**	0,279 ± 0,039**
1б	0,130 ± 0,001	2,572 ± 0,239**	3,696 ± 0,341**	0,756 ± 0,070**
2	0,068 ± 0,001	0,556 ± 0,039**	0,799 ± 0,056**	0,164 ± 0,011**
3	0,034 ± 0,001	0,564 ± 0,017 *	0,810 ± 0,024**	0,166 ± 0,005**
<i>Уманская</i>				
1a	0,143 ± 0,002	0,563 ± 0,030	0,938 ± 0,050*	0,147 ± 0,008*
1б	0,130 ± 0,001	2,321 ± 0,095**	3,869 ± 0,160**	0,608 ± 0,025**
2	0,068 ± 0,002	0,612 ± 0,040 *	1,020 ± 0,067**	0,160 ± 0,011**
3	0,037 ± 0,001	0,461 ± 0,030 *	0,768 ± 0,050**	0,121 ± 0,008**
<i>Каневская</i>				
1a	0,132 ± 0,002	1,212 ± 0,169**	1,665 ± 0,241**	0,363 ± 0,051**
1б	0,121 ± 0,001	2,014 ± 0,120**	2,767 ± 0,171**	0,603 ± 0,036**
2	0,066 ± 0,002	0,786 ± 0,062**	1,080 ± 0,089**	0,235 ± 0,019*
3	0,035 ± 0,001	0,785 ± 0,085**	1,079 ± 0,121**	0,235 ± 0,026 *
<i>Тверская</i>				
1a	0,137 ± 0,001	0,582 ± 0,027*	0,804 ± 0,039**	0,135 ± 0,006**
1б	0,121 ± 0,001	2,381 ± 0,041**	3,289 ± 0,059**	0,552 ± 0,010**
2	0,068 ± 0,002	0,451 ± 0,011 *	0,623 ± 0,016**	0,105 ± 0,003**
3	0,032 ± 0,001	0,397 ± 0,006 *	0,548 ± 0,009**	0,092 ± 0,001**

Таблица 1

кислот самцов и самок имаго разных популяций *Drosophila melanogaster*

$(\bar{x} \pm s_x^-; n_{max} = 15)$					Kd
Самки					
популяция					
Mff	Rf	$\overline{\Delta Do} / ex$	$\overline{\Delta Do} / \bar{m}$	$\overline{\Delta Do} / [\bar{P}]$	
1a	0,273 ± 0,033	0,445 ± 0,053	0,318 ± 0,038*	0,044 ± 0,005*	1,2; 2,9; 3,4
1б	0,251 ± 0,002	0,945 ± 0,061*	0,675 ± 0,044*	0,094 ± 0,006*	1,4; 3,3; 3,9
2	0,107 ± 0,002	0,590 ± 0,056*	0,421 ± 0,040*	0,058 ± 0,006*	1,6; 3,8; 4,5
3	0,051 ± 0,001	1,040 ± 0,088	0,743 ± 0,063*	0,103 ± 0,009*	1,1; 2,5; 2,9
популяция					
1a	0,142 ± 0,001	0,536 ± 0,069*	0,480 ± 0,063**	0,094 ± 0,012**	1,8; 2,8; 3,0
1б	0,130 ± 0,001	1,464 ± 0,189**	1,312 ± 0,172**	0,256 ± 0,033**	1,8; 2,8; 3,0
2	0,068 ± 0,001	0,428 ± 0,051**	0,384 ± 0,046*	0,075 ± 0,009*	1,4; 2,1; 2,2
3	0,034 ± 0,001	0,392 ± 0,011 *	0,351 ± 0,010**	0,068 ± 0,002**	1,4; 2,3; 2,4
популяция					
1a	0,143 ± 0,002	0,477 ± 0,010	0,402 ± 0,008**	0,060 ± 0,001**	1,2; 2,3; 2,5
1б	0,130 ± 0,001	1,228 ± 0,097**	1,037 ± 0,081**	0,153 ± 0,012**	1,9; 3,7; 4,0
2	0,068 ± 0,002	0,522 ± 0,024	0,441 ± 0,020*	0,065 ± 0,003*	1,2; 2,3; 2,5
3	0,037 ± 0,001	0,403 ± 0,009 *	0,341 ± 0,008**	0,050 ± 0,001**	1,1; 2,3; 2,4
популяция					
1a	0,132 ± 0,002	0,550 ± 0,019*	0,410 ± 0,015**	0,142 ± 0,005**	2,2; 4,1; 2,6
1б	0,121 ± 0,001	1,138 ± 0,105*	0,849 ± 0,081*	0,293 ± 0,027**	1,8; 3,3; 2,1
2	0,066 ± 0,002	0,556 ± 0,033*	0,415 ± 0,025*	0,143 ± 0,008**	1,4; 2,6; 1,6
3	0,035 ± 0,001	1,116 ± 0,110*	0,833 ± 0,083*	0,288 ± 0,028 *	1,4; 1,3; 1,2
популяция					
1a	0,137 ± 0,001	0,391 ± 0,011**	0,237 ± 0,006**	0,049 ± 0,001*	1,5; 3,4; 2,8
1б	0,121 ± 0,001	1,136 ± 0,061**	0,688 ± 0,036*	0,142 ± 0,008**	2,1; 4,8; 3,9
2	0,068 ± 0,002	0,363 ± 0,016 *	0,220 ± 0,009**	0,045 ± 0,002**	1,2; 2,8; 2,3
3	0,032 ± 0,001	0,425 ± 0,014 *	0,258 ± 0,008**	0,053 ± 0,002**	1,1; 2,1; 1,7

Примечание: Mff — молекулярные формы ферментов и их порядковые номера; Rf — относительная электрофоретическая подвижность; $\overline{\Delta Do} / ex$ — относительная активность, выраженная через оптическую плотность (условные единицы), в расчёте на одну особь, $\overline{\Delta Do} / \bar{m}$ — удельная активность в расчёте на 1 мг массы одной особи, $\overline{\Delta Do} / [\bar{P}]$ — удельная активность в расчёте на 1 мг общего белка, содержащегося в экстракте тканей одной особи; Kd — коэффициент различия; * (первая) — различия по сравниваемым параметрам — относительной экспрессии и удельной активности — между самцами и самками каждой из популяций достоверны при $P < 0,05$, * (вторая) — различия между самцами и самками разных популяций достоверны при $P < 0,05$.

ся как самцы, так и самки *Одесской* и *Каневской* популяций, которые вместе с тем характеризуются довольно высокими показателями массы тела (*Каневская* популяция: \bar{m} самца — $0,728 \pm 0,025$ мг, \bar{m} самки — $1,340 \pm 0,049$ мг; *Одесская* популяция: \bar{m} самца — $0,600 \pm 0,036$ мг, \bar{m} самки — $1,4 \pm 0,042$ мг). (Для сравнения приводим данные по другим популяциям: *Южненская*: \bar{m} самца — $0,696 \pm 0,027$ мг, \bar{m} самки — $1,116 \pm 0,031$ мг; *Уманская*: \bar{m} самца — $0,600 \pm 0,026$ мг, \bar{m} самки — $1,184 \pm 0,045$ мг; *Тверская*: \bar{m} самца — $0,724 \pm 0,021$ мг, \bar{m} самки — $1,652 \pm 0,046$ мг.)

Расчитанные показатели удельной активности — $\overline{\Delta Do}/[\bar{P}]$ (относительные единицы в расчёте на 1 мг общего белка) — для выявленных карбоксиэстераз подтверждают наличие полового диморфизма у половозрелых имаго независимо от того, к какой популяции они относятся (по нашим данным, для вида в целом усреднённые показатели Kd составляют по относительной активности эстераз 1а — 1,6, 1б — 1,8, 2 — 1,1 и 3 — 1,2; в то же время по удельным активностям 1а — 3,1 и 2,9, 1б — 3,6 и 3,4, 2 — 2,7 и 2,6, и 3 — 2,1 и 2,1 в расчёте на единицу массы тела, а также в расчёте на единицу белка, соответственно). Несмотря на то, что по количеству экстрагируемого белка самки примерно в 2 раза превосходят самцов, на единицу общего протеина у них приходится гораздо меньше активности эстераз, нежели у самцов.

Интересно отметить, что по удельной активности практически всех эстераз отсутствуют существенные различия между самцами разных линий. Исключением является в 3 раза более выраженная активность ацетилхолинэстеразы (фермент № 3) самцов *Каневской* и *Одесской* популяций. В отличие от этого, между самками сравниваемых популяционных групп наблюдаются достоверные различия, связанные, скорее всего, с разным содержанием белка в анализируемых экстрактах их тканей. Так, из одной особи *Каневской* популяции экстрагируется $3,878 \pm 0,284$ мг суммарного белка, *Южненской* — $5,730 \pm 0,147$ мг, *Тверской* и *Уманской* — $8,010 \pm 0,270$ мг, *Одесской* — $10,1 \pm 0,425$ мг.

Таким образом, несмотря на то, что исследуемые популяции, относящиеся к одному виду *melanogaster*, были адаптированы в течение многих поколений к одним и тем же условиям содержания (режим питания, влажность, температура, сходные численность, плотность населения и т. д.), по многим параметрам они сохраняют существенные межпопуляционные различия, касающиеся степени выраженности изучаемых биохимических показателей, включая половой диморфизм по экспрессии эстераз. Очевидно, в основе наблюдаемых различий между популяциями разного происхождения лежат особенности организации их ген-энзимных систем, обеспечивающих фенотипическое выражение данных биохимических при-

знаков. Не исключено, что при анализе выборок природных популяций соответствующих регионов без предварительной адаптации их к лабораторным условиям могут быть обнаружены ещё более яркие как внутри-, так и межпопуляционные различия в экспрессии основных гидролаз эфиров карбоновых кислот.

Выводы

1. Установлены половые различия в активности основных гидролаз эфиров карбоновых кислот у имаго *Drosophila melanogaster*.
2. Наиболее выраженным признаком полового диморфизма является активность β -специфичной карбоксиэстеразы.
3. Половой диморфизм по активности основных эстераз в равной мере характерен для *Одесской*, *Южненской*, *Уманской*, *Каневской*, а также *Тверской* популяций.
4. Для каждой лабораторной популяции дрозофилы присущи свои уровни активности карбоксиэстераз, отличные от таковых других популяций.

Литература

1. Геодакян В. А. Эволюционная роль половых хромосом (новая концепция) // Генетика. — 1998. — Т. 34, № 8. — С. 1171–1184.
2. Геодакян В. А. Половые хромосомы: для чего они? (Новая концепция) // Докл. Российской Академии наук. — 1996. — Т. 346, № 4. — С. 565–569.
3. Антипин М. И., Ракицкая Т. А., Имашева А. Г. Стабильность развития и изменчивость морфологических признаков в природной популяции *Drosophila melanogaster*: сезонная динамика 1999 г. // Генетика. — 2001. — Т. 37, № 1. — С. 66–72.
4. Лобков В. А. Крапчатый суслик Северо-Западного Причерноморья: биология, функционирование популяций. — Одесса: Астропринт, 1999. — 272 с.
5. Голубцов А. С. Внутрипопуляционная изменчивость животных и белковый полиморфизм. — М.: Наука, 1988. — 168 с.
6. Эрман Л., Парсонс П. Генетика поведения и эволюция. — М.: Мир, 1984. — 562 с.
7. Тинберген Н. Поведение животных. — М.: Мир, 1985. — 192 с.
8. Зорина З. А., Полетаева И. И., Резникова Ж. И. Основы этологии и генетики поведения. — М.: МГУ, 1999. — 383 с.
9. Ruvolo-Takasusuki Maria Claudia C., Collet Thais. Characterization of *Nasutitermes globiceps* (Isoptera: Termitidae) esterases // Biochem. Genet. — 2000. — Vol. 38, N 11–12. — P. 367–375.
10. Щеглова Н. В., Илясов Ю. И. К вопросу об эстеразах у карпа (*Cyprinus carpio* L.) // В кн. «Биохимическая и популяционная генетика рыб». Материалы совещания. — Л., 1979. — 184 с.
11. Алексеев Ф. Е., Алексеева Е. И., Титова Н. В. Полиморфная система мышечных эстераз, экологическая структура поселений и исследование структуры вида у макруруса (*Macrurus rufestris* Guin.) // В кн. "Биохимическая и популяционная генетика рыб". Материалы совещания. — Л., 1979. — 184 с.
12. Тоцкий В. Н., Есеркепова Е. В., Джан З. У. Ген-энзимная система эстеразы-6 и устойчивость дрозофилы к повышенной температуре // Генетика. — 1994. — Т. 30, № 3. — С. 342–348.
13. Корочкин Л. И. Клонирование, экспрессия, регуляция тканеспецифических генов у дрозофилы // Генетика. — 1995. — Т. 31, № 8. — С. 1029–1042.

14. Балакирев Е. С., Айала Ф. Дж. Нуклеотидная изменчивость β -эстеразных генов в природных популяциях *Drosophila melanogaster* // Успехи соврем. биологии. — 2004. — Т. 124, № 4. — С. 378–389.
15. Андрієвський А. М., Кучеров В. А., Тоцький В. Н., Деркач Е. В. Онтогенетические особенности экспрессии карбоксиэстераз у *Drosophila melanogaster* // Вісник ОНУ, 2005. — Т. 10. — Вип. 5. — С. 26–35.
16. Медведев Н. Н. Практическая генетика. — М.: Наука, 1968. — 294 с.
17. Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 193, N 1. — P. 265–275.
18. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — Минск: Высшая школа, 1973. — 320 с.
19. Андрієвський А. М., Кучеров В. А., Тоцький В. Н. Методические проблемы изучения полиморфизма карбоксиэстераз в онтогенезе *Drosophila melanogaster* // Вісник ОНУ, 2004. — Т. 9. — Вип. 1. — С. 15–24.
20. Андрієвський А. М., Кучеров В. А. Выделение и идентификация карбоксиэстераз *Drosophila melanogaster* // Вісник ОНУ, 2004. — Т. 9. — Вип. 5. — С. 11–22.

О. М. Андрієвський

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

СТАТЕВИЙ ДИМОРФІЗМ ПО ЕКСПРЕСІЇ ГІДРОЛАЗ ЕФІРІВ КАРБОНОВИХ КИСЛОТ У ПОПУЛЯЦІЯХ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Резюме

Методом комп'ютерної денситометрії визначали рівень активності електрофоретично розділених гідролаз ефірів карбонових кислот самців та самок *Drosophila melanogaster*, що належать *Одеській, Южненській, Уманській, Канівській та Тверській* популяціям. Множинні молекулярні форми ферментів у блоках поліакриламідного гелю виявляли шляхом проведення реакції одночасного азосполучення діазонія з α - і β -нафтолами, що утворюються в результаті гідролізу α - і β -нафтилацетатів. Установлено статеві відмінності експресії ацетилхолінестерази, ацетилестерази, а також у прояві активності S- і F-алозимів β -специфічної естерази. Показані міжпопуляційні розбіжності за досліджуваними біохімічними ознаками. Розглядається доцільність обумовленої статтю мінливості в експресивності основних карбоксиестераз плодової мушки.

Ключові слова: популяції *Drosophila melanogaster*, активність гідролаз ефірів карбонових кислот, статевий диморфізм.

A. M. Andrievsky

Odessa National University, Department of genetics and molecular biology
Dvoryanskaya Str., 2, Odessa, 65026, Ukraine, E-mail: andriev_scar@mail.ru

**SEXUAL DIMORPHISM FROM THE ETHERS EXPRESSIVITY OF
CARBONIC ACIDS HYDROLASES IN THE POPULATIONS OF
*DROSOPHILA MELANOGASTER***

Summary

Using the method of computer densitometry we have determined the activity level of the electrophoretically separated ether hydrolases of carbonic acids in males and females of the *Drosophila melanogaster* that belongs to *Odesskaya*, *Yuzhnenskaya*, *Umanskaya*, *Kanevskaya* and *Tverskaya* populations. The ferment diversity in the polyacrylamid gel blocks was specified using the reaction of simultaneous azocoupling of diazonium with α - and β -naphthols formed as a result of the hydrolysis of α - and β -naphthylacetates. The sexual differences in expressivity of S- and F- allozymes of β -specific esterases were established. The interpopulation diversity on the studied biochemical features are shown. We also consider the purpose behaviour of the sexual variability of the expressivity of the main carboesterases of the *Drosophila*.

Keywords: populations of *Drosophila melanogaster*, activity of the ethers of carbonic acid hydrolases, sexual dimorphism.

УДК 577.152.342:577.15.072

І. Л. Вовчук, канд. біол. наук, докторантОдеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна.
Тел.: (0482) 68-78-75; e-mail: irvov@ukr.net

ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ КАРБОКСИПЕПТИДАЗИ А З ТКАНИНИ ЯЄЧНИКА МЕТОДОМ ГЕЛЬ-ХРОМАТОГРАФІЇ

Розроблена методика виділення та очищення карбоксипептидази А з тканин яєчника, що складається з поступового осадження ферменту сульфатом амонію та гель-хроматографії на сефадексах G-75 та G-100. Встановлено, що градієнтне висолення призводить до ефективного розподілу карбоксипептидази А по фракціях з максимальним виходом ферменту при 80%-ному насиченні $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Показано, що стабільні за умов хроматографії молекулярні форми карбоксипептидази А вихідного розчину та фракції, отриманної за 20%-ного насичення сульфатом амонію, мають близькі молекулярні маси, а ферменти фракцій, що отримані за 40%-ного та 60%-ного насичення, під час хроматографії піддаються обмеженому протеолізу без порушення активного центру.

Ключові слова: карбоксипептидаза А, виділення ферментів, гель-хроматографія.

В попередніх дослідженнях нами було встановлено підвищення активності карбоксипептидази А (КФ 3.4.2.1) в пухлинах яєчників [1], тканин тіла матки [2] та молочної залози [3] порівняно з немалігнізованими тканинами. Вивчення механізмів регуляції активності цих протеолітичних ферментів як на молекулярному, так і на тканинному рівні та порівняльні дослідження біохімічних властивостей карбоксипептидази А немалігнізованої та пухлинних тканин можливі тільки в разі отримання їх в очищеному стані. В зв'язку з тим, що в доступній літературі відсутня інформація щодо виділення та очищення препаратів карбоксипептидази А з тканин яєчника, метою нашої роботи була розробка методу виділення та очищення препарату карбоксипептидази А з метою подальшого вивчення фізико-хімічних та біохімічних властивостей цього ферменту.

Матеріали і методи

Тканину яєчника гомогенізували в дистильованій воді у співвідношенні 1:10 і центрифугували при 9 000 g (при +4°C) протягом 45 хв. Осад ресуспендували в дистильованій воді в співвідношенні 1:5, гомогенізували в аналогічних умовах, а супернатанти об'єднували. Отриманий білковий розчин діалізували проти 40 об'ємів ди-

стильованої води при +4°C протягом 12 годин. Поступове фракційне осадження здійснювали сульфатом амонію, насичуючи білковий розчин до 20, 40, 60 та 80%. Кожну фракцію діалізували в аналогічних умовах та в подальшому використовували у хроматографічних дослідженнях. Хроматографію провадили на сефадексах G-75 та G-100 (2,0×28,0 см). Елюцію провадили дистильованою водою та плавним градієнтом NaCl. Визначення молекулярних мас провадили за методом Ендрюса [4], використовуючи маркерні білки ("Serva" Швеція): білок сироватки людини — 66 500 Да, овальбумін — 43 000 Да, хімотрипсиноген А — 25 000 Да, лізоцим — 17 500 Да та РНК-аза — 13 700 Да. Активність карбоксипептидази А визначали за швидкістю гідролізу синтетичного субстрату карбо-бензоксифенілаланіну [5], тобто по приросту оптичної щільності при 570 нм за 30 хвилин інкубації при 37°C, питому активність — в одиницях оптичної щільності на мг білка. Вміст білка визначали спектрофотометричним методом при 280 нм та за методом Лоурі [6].

Статистичну значимість відмінностей між вибірками визначали за допомогою критерію Ст'юдента [7].

Результати та їх обговорення

Експериментальним шляхом було встановлено, що діаліз — найбільш розповсюджений метод очищення білкових розчинів від низькомолекулярних сполук — призводить до збільшення в 2 рази загальної та питомої активностей, а також проценту виходу ферменту. Вихідний розчин білка після діалізу містить 12,5% низькомолекулярних сполук (табл. 1). За подальшого поступового осадження білків сульфатом амонію виявлялося не менш 4 фракцій карбоксипептидази А, які осаджувалися на різних ступенях насичення (табл. 1). Щодо показників діалізованого розчину білка, то при 20%-ному насиченні сульфатом амонію осаджується 7,14% загального білка та 4,31% ферментативної активності. Відносна активність карбоксипептидази А цієї фракції знижується в 4,0 рази, а питома активність та коефіцієнт очищення збільшуються в 3,5 рази, що свідчить про втрату під час фракціонування факторів, які регулюють ферментативну активність. При 40%-ному та 60%-ному насиченні сульфатом амонію осаджувалося відповідно 48,9% і 40,80% загального білка та 16,07% і 7,40% ферментативної активності, однак коефіцієнт очистки та питома активність ферменту були менші, ніж показники діалізованого розчину білка. Найбільший процент виходу ферментів — 36,67% — виявився при 80%-ному насиченні сульфатом амонію з коефіцієнтом очистки — 10,8 рази. В цілому при осадженні сульфатом амонію процент виходу карбоксипептидази А становив 54,5% відносно діалізованого розчину білка.

Таблиця 1
Активність карбоксипептидази А на етапах виділення та очищення ($M \pm m; n = 4$)

Етап виділення	Об'єм, мл	Білок, мг/мл	Активність* ΔE_{570}	Питома активність, $\Delta E_{570}/\text{мг білка}$	Загальна активність, $V \times \Delta E_{570}$	Коефіцієнт очищення	% виходу
Вихідний розчин білка	36,0 \pm 3,20	112,0 \pm 7,4	1,200 \pm 0,110	10,71 \pm 0,984	43,20 \pm 3,96		
Хроматографія на G-75:							
Нанесено	2,5 \pm 0,27	280,0 \pm 28,2			3,05 \pm 0,347	1,00	100,00
На виході з колонки	40,0 \pm 3,46	2,7 \pm 0,238	0,147 \pm 0,016	54,44 \pm 4,931	5,88 \pm 0,612	5,08	192,80
Розчин білка після діалізу	36,0 \pm 2,19	98,0 \pm 6,1	2,500 \pm 0,267	25,51 \pm 1,937	90,00 \pm 9,24	1,00	100,00
20% насичення $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$							
Хроматографія на G-75:							
Нанесено	6,2 \pm 0,53	7,0 \pm 0,4	0,625 \pm 0,071	89,29 \pm 7,427	3,88 \pm 0,412	3,50 ⁺	4,31 ⁺
На виході з колонки	2,5 \pm 0,3	17,5 \pm 0,134			1,563 \pm 0,182	1,00	100,00
40% насичення $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$							
Хроматографія на G-75:							
Нанесено	40,0 \pm 3,67	1,1 \pm 0,162	0,101 \pm 0,009	91,82 \pm 8,726	4,042 \pm 0,357	1,03	258,60
На виході з колонки	8,4 \pm 0,72	48,0 \pm 3,12	0,650 \pm 0,072	13,54 \pm 1,167	5,46 \pm 0,572	0,53 ⁺	6,07 ⁺
Нанесено	2,5 \pm 0,21	120,0 \pm 11,7			1,625 \pm 0,172	1,00	100,00
На виході з колонки:							
Фракція 1	5,0 \pm 0,16	4,8 \pm 0,427	0,052 \pm 0,006	10,83 \pm 1,107	0,780 \pm 0,081	0,80	48,00
Фракція 2	25,0 \pm 2,19	2,8 \pm 0,261	0,254 \pm 0,022	90,71 \pm 8,723	6,350 \pm 0,594	3,91	390,77
Фракція 3	65,0 \pm 6,38	3,0 \pm 0,284	0,148 \pm 0,016	49,33 \pm 4,707	9,620 \pm 1,009	3,64	592,00

Закінчення таблиці 1

Етап виділення	Об'єм, мл	Білок, мг/мл	Активність* ΔE_{570}	Питома активність, $\Delta E_{570}/\text{мг білка}$	Загальна активність, $V \times \Delta E_{570}$	Коефіцієнт очищення	% виходу
60% насичення $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ Хроматографія на G-100: Нанесено На виході з колонки: Фракція 1 Фракція 2	7,2±0,61	40,0±3,21	0,925±0,085	23,13±1,934	6,66±0,715	0,91 ⁺	7,40 ⁺
	5,0±0,44	200,0±18,23			4,625±0,485	1,00	100,00
	55,0±5,13	3,0±0,287	0,223±0,025	74,33±7,238	12,265±1,317	3,21	264,87
	35,0±3,28	8,0±0,788	0,755±0,079	94,38±9,211	26,430±2,410	4,08	571,46
80% насичення $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ Хроматографія на G-75: Нанесено На виході з колонки	24,0±1,38	5,0±0,34	1,375±0,151	275,00±22,467	33,00±2,971	10,78 ⁺	36,67 ⁺
	15,0±1,29	75,0±6,38			20,625±1,908	1,00	100,00
	50,0±4,81	20,0±1,84	0,260±0,024	13,000±1,186	13,000±1,164	0,47	63,03
Всього:							54,48 ⁺

Примітка: * — активність ферменту виражали у величинах приросту екстинкції при довжині хвилі 570 нм за 30 хвилин інкубації; + — коефіцієнт очищення та процент виходу ферменту у порівнянні з показниками білкового розчину, отриманого після діалізу.

Подальше використання методу гель-хроматографії дало можливість очистити фракції, що містили карбоксипептидазу А, до 5,0 разів з виходом ферменту від 48,0% до 592,0%. Цим методом було встановлено, що значна кількість водорозчинних білків вихідного розчину представлена як високо-молекулярними білками масою від 63,5 кДа до 43,0 кДа, так і низькомолекулярними пептидами, які вимиваються із сефадексу плавним градієнтом NaCl (рис. 1). Коефіцієнт очистки карбоксипептидази А вихідного розчину, активність якої була найвищою у білковій фракції з молекулярною масою 41746,30 Да, становив 5,1, а процент виходу — 192,8 (рис. 2, табл. 1).

На відміну від результатів, отриманих при осадженні сульфатом амонію, подальше очищення цієї фракції хроматографічним методом призводило до значної втрати відносної активності, але у 2,5 рази збільшувало процент виходу ферменту (рис. 3, табл. 1). Як у вихідному розчині, так і у фракції, отриманій після 20%-ного насичення, активність карбоксипептидази А виявлялася в єдиній білковій фракції з молекулярною масою біля 40094,61 Да, що може свідчити про ідентичність ферментів (рис. 2).

У розчині, що був отриманий хроматографією матеріалу, накопиченого після 40%-ного насичення сульфатом амонію, було встановлено наявність трьох білкових фракцій з карбоксипептидазною активністю, одна з яких (на хроматограмі пік III) сорбувалася на сефадексі та вимивалася 0,5 М розчином NaCl (рис. 4). Відносна та питома активності ферменту першої фракції (Mr 47120,84 Да) були нижчими за відповідні показники вихідного досліджуваного розчину, а другої (Mr 5546,63 Да) та третьої (Mr 1059,81 Да) фракцій — навпаки, значно вищими (рис. 2, табл. 1).

Хроматографічним методом на сефадексі G-100 серед білків, осаджених при 60%-ному насиченні сульфатом амонію, було встановлено наявність двох білкових фракцій з карбоксипептидазною активністю. Питома активність ферменту з Mr 76488,12 Да, що був очищений в 3,2 рази, зросла при цьому до 264,9. Молекулярна маса іншої карбоксипептидази, яка сорбувалася на сефадексі і вимивалася 0,2–0,3 М NaCl, була незначною — 6787,16 Да (рис. 2, 5, табл. 1). Отримані результати свідчать про те, що під час хроматографії певна кількість ферменту зазнала обмеженого протеолізу без порушення активного центру.

Хроматографічний розподіл фракції білків, попередньо отриманої за 80%-ного насичення сульфатом амонію, виявив наявність однієї білкової фракції з карбоксипептидазною активністю (рис. 2, 6, табл. 1) та молекулярною масою (Mr 36984,69 Да), властивою для ферменту, виділеного з підшлункової залози великої рогатої худоби [8].

Отримані результати свідчать про те, що попереднє градієнтне осадження білків сульфатом амонію призводить до розподілу карбоксипептидази А по фракціях. Слід зазначити, що, на відміну від даних інших авторів [9] про осадження цього ферменту при

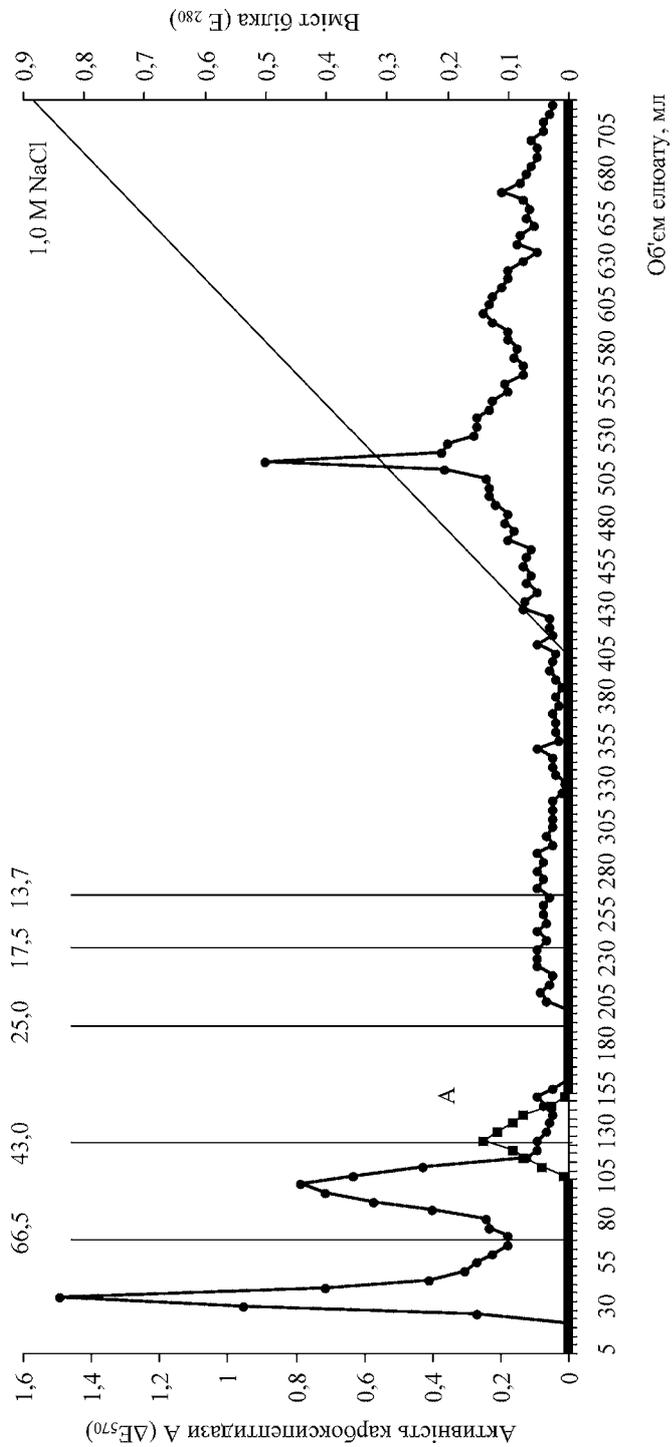


Рис. 1. Хроматографічний розподіл активності карбоксипептидази А і вміст білка у фракції водорозчинних білків тканини яєчника (вихідний розчин). Сефадекс G 75 (2,0 x 28,0 см). Нанесено 280,0 мг білка; об'єм фракції 5,0 мл, швидкість — 27,3 мл/год, елювання дистильованою водою з 0,05 М оцтовокислим цинком (рН 5,2). Молекулярні маси маркерних білків вказані в кДа

- А — активність карбоксипептидази А;
- — вміст білка (E₂₈₀);
- — активність карбоксипептидази А (ΔE₅₇₀).

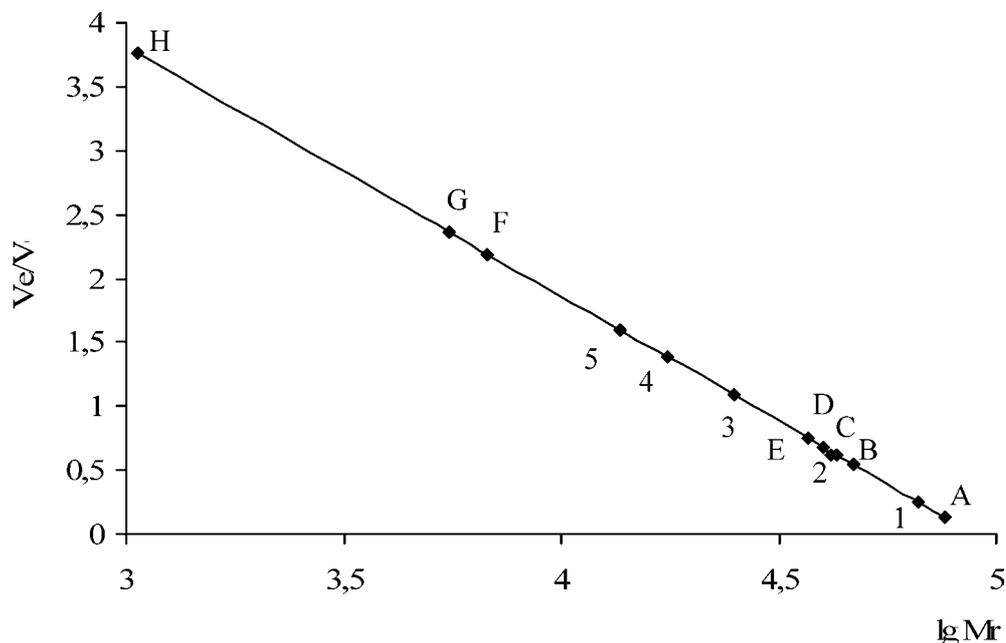


Рис. 2. Визначення молекулярних мас карбоксипептидази А яєчника методом гелі-фільтрації на сефадексі G-75.

- A — фермент, отриманий методом хроматографії із фракції 60% -ного насичення сульфатом амонію (I Пік, Mr 76488,12 Да);
 1 — альбумін сироватки людини (Mr 66500 Да);
 B — фермент, отриманий методом хроматографії із фракції 40% -ного насичення сульфатом амонію (I Пік, Mr 47120,84 Да);
 2 — овальбумін (Mr 43000 Да);
 C — фермент, отриманий методом хроматографії із фракції вихідного розчину білка (Mr 41746,30 Да);
 D — фермент, отриманий методом хроматографії із фракції 20% -ного насичення сульфатом амонію (Mr 40094,61 Да);
 E — фермент, отриманий методом хроматографії із фракції 80% -ного насичення сульфатом амонію (Mr 36984,69 Да);
 3 — хімотрипсिनоген А (Mr 25000 Да);
 4 — лізоцим (Mr 17500 Да);
 5 — рибонуклеаза (Mr 13700 Да);
 F — фермент, отриманий методом хроматографії із фракції 60% -ного насичення сульфатом амонію (II пік, Mr 6787,16 Да);
 G — фермент, отриманий методом хроматографії із фракції 40% -ного насичення сульфатом амонію (II пік, Mr 5546,63 Да).
 H — фермент, отриманий методом хроматографії із фракції 40% -ного насичення сульфатом амонію (III пік, Mr 1059,81 Да).

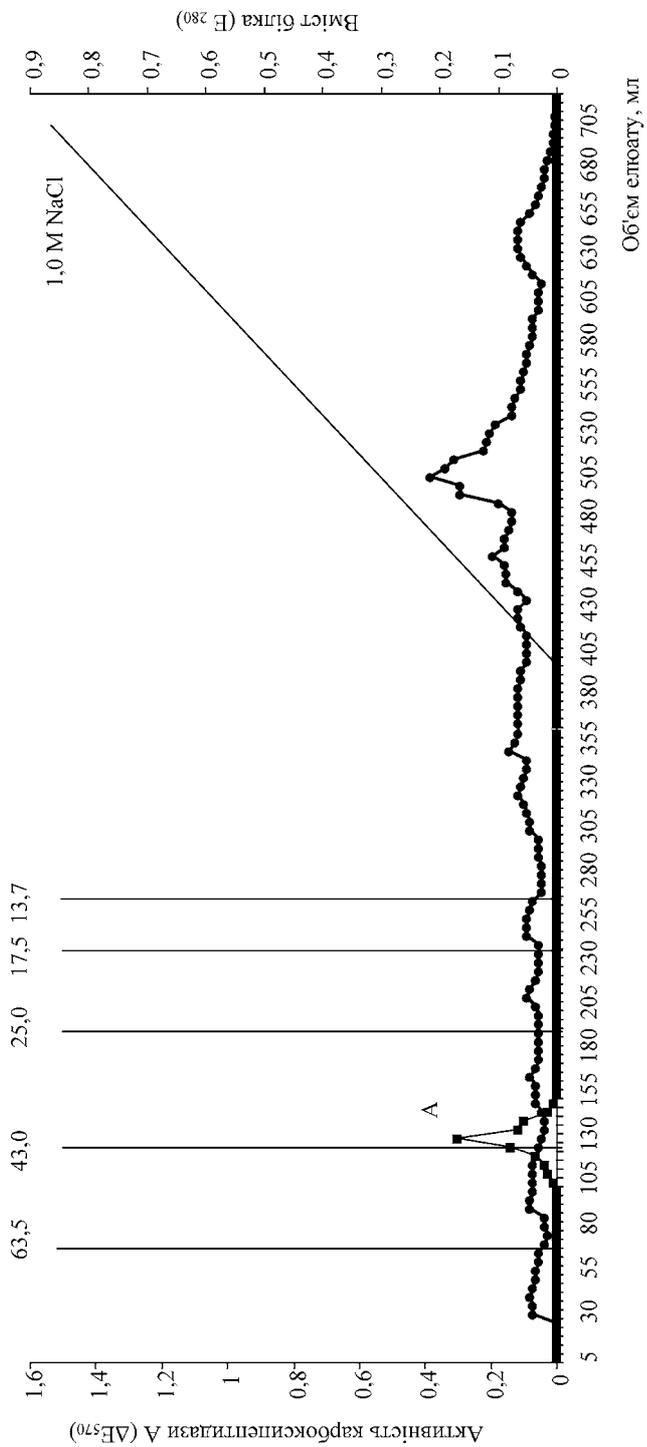


Рис. 3. Активність карбоксипептидази А і вміст білка в елюатах, зібраних під час хроматографії. Досліджуваний матеріал — білки яєчника, попередньо осаджені при 20% -ному насиченні сульфатом амонію. Сефадекс G-75 (2,0 x 28,0 см). Нанесено 17,5 мг білка; об'єм фракції 5,0 мл, швидкість 27,3 мл/год, елюювання дистильованою водою з 0,05 М отгово-кислим цинком (рН 5,2). Молекулярні маси маркерних білків вказані в кДа.

А — активність карбоксипептидази А;

1 — вміст білка (E_{280});

2 — активність карбоксипептидази А (ΔE_{570}).

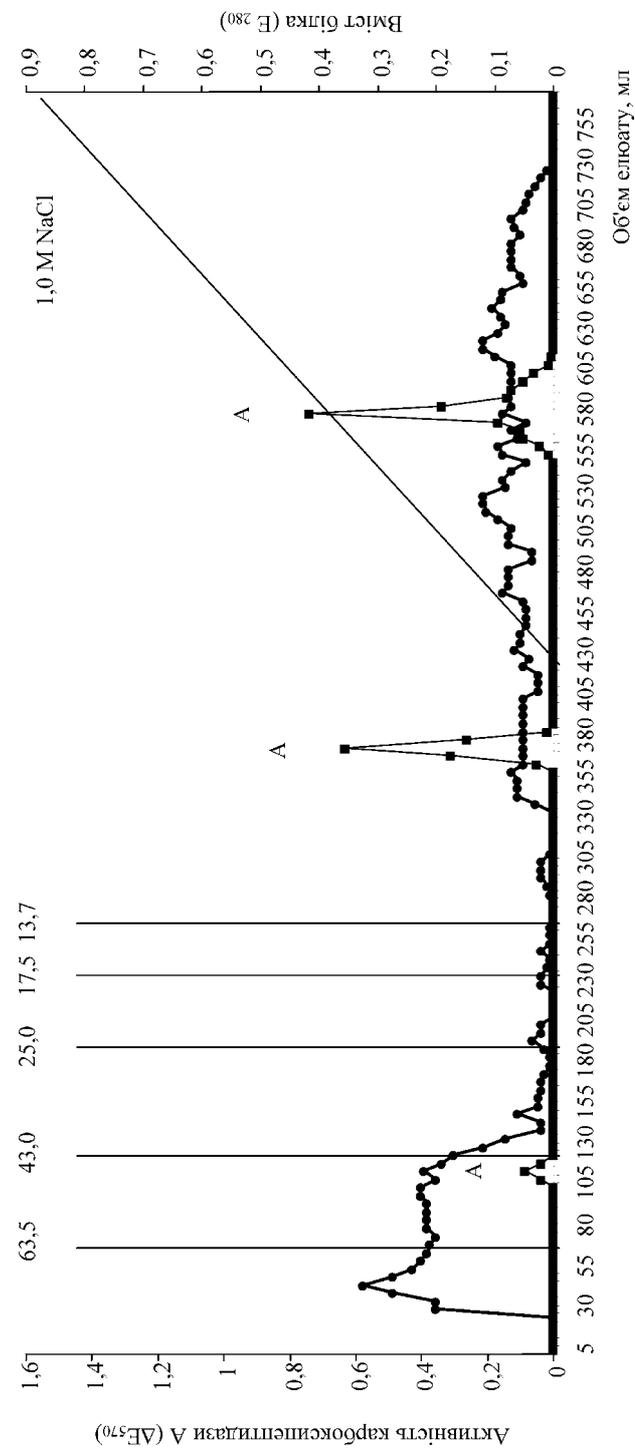


Рис. 4. Хроματοграфічний розподіл активності карбоксипептидази А і вміст білка у фракції водорозчинних білків тланини ячмінки, осаджених при 40% -ному насиченні сульфатом амонію. Сефадекс G-75 (2,0 x 28,0 см). Нанесено 120,0 мг білка; об'єм фракції 5,0 мл, швидкість — 27,3 мл/год, елюювання дистильованою водою з 0,05 М оцтовокислим цинком (рН 5,2). Молекулярні маси маркерних білків вказані в к.Да.

А — активність карбоксипептидази А;

● — вміст білка (E₂₈₀);

■ — активність карбоксипептидази А (ΔE₅₇₀).

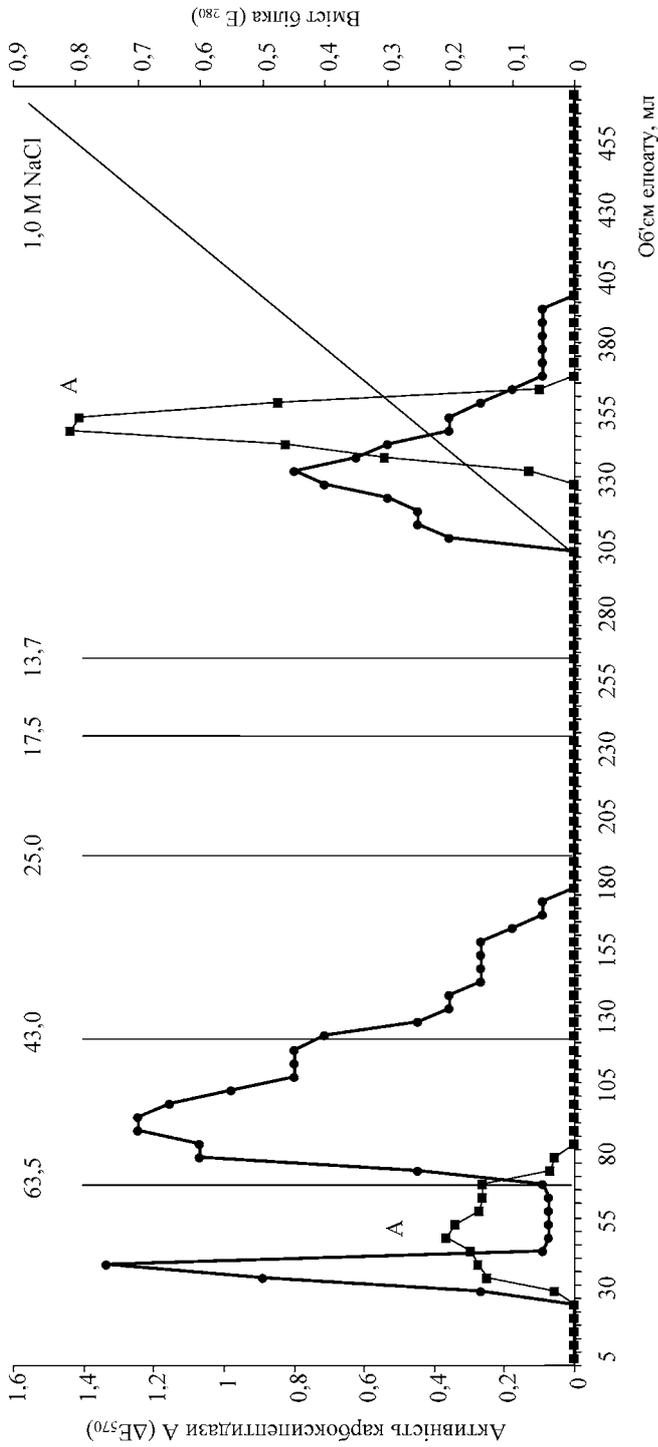


Рис. 5. Хроматографічний розподіл активності карбоксипептидази А і вміст білка у фракції водорозчинних білків тланини ячменя, осаджених при 60%-ному насиченні сульфатом амонію. Сефадекс G-100 (2,0 x 28,0 см). Нанесено 200,0 мг білка; об'єм фракції 5,0 мл, швидкість — 27,3 мл/год, елюювання дистильованою водою з 0,05 М оцтовокислим цинком (рН 5,2). Молекулярні маси маркерних білків вказані в кДа.

А — активність карбоксипептидази А;

● — вміст білка (E_{280});

■ — активність карбоксипептидази А (ΔE_{570}).

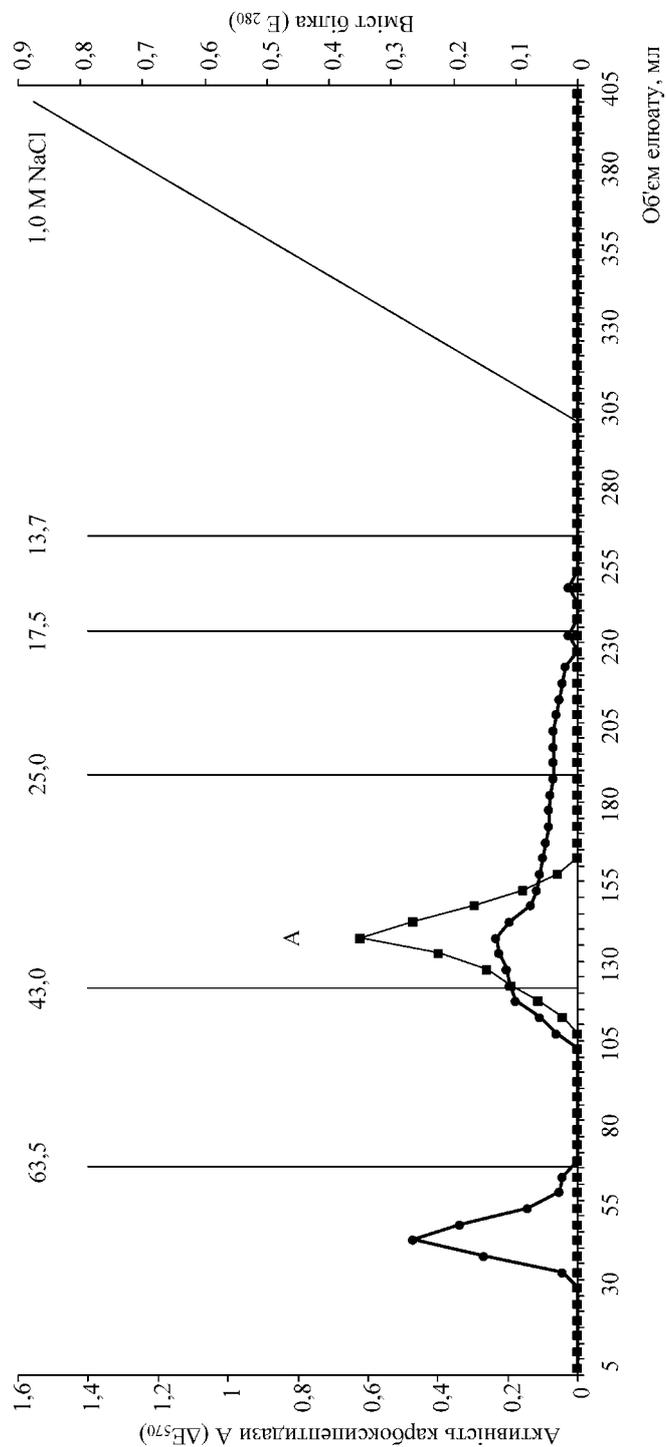


Рис. 6. Хроматографічний розподіл активності карбоксипептидази А і вміст білка у фракції водорозчинних білків тканини яєчника, осаджених при 80% -ному насиченні сульфатом амонію. Сефадекс G-75 (2,0 x 28,0 см). Нанесено 75,0 мг білка; об'єм фракції 5,0 мл, швидкість — 27,3 мл/год, елювання дистильованою водою з 0,05 М оцтовокислим цинком (рН 5,2). Молекулярні маси маркерних білків вказані в к.Да.

А — активність карбоксипептидази А;
 ● — вміст білка (E₂₈₀);
 ■ — активність карбоксипептидази А (ΔE₅₇₀)

60–80%-ному насиченні сульфатом амонію, в наших дослідах 67,3% загальної кількості ферменту випадає в осад в більш вузькому діапазоні концентрації солі, а саме при 80%-ному насиченні.

Хроматографічними дослідженнями було встановлено наявність у вихідному розчині білка та після 20%-ного насичення розчину сульфатом амонію молекулярної форми карбоксипептидази А з дуже близькими молекулярними масами, що свідчить про їх ідентичність. Після 40%-ного та 60%-ного насичення розчину білка сульфатом амонію у досліджуваному хроматографічно матеріалі появляються додаткові низькомолекулярні білки, що мають карбоксипептидазну активність. Можна вважати, що за наявності в розчині цих карбоксипептидаз під час хроматографії карбоксипептидаза А піддається обмеженій деградації.

В протилежність цьому, карбоксипептидаза А, отримана за 80%-ного насичення сульфатом амонію, є достатньо стабільною і може бути використана для подальшого вивчення фізико-хімічних та біохімічних властивостей цього ферменту.

Висновки

1. Розроблена методика виділення та очищення карбоксипептидази А, основана на поступовому осадженні білків сульфатом амонію та наступній їх гелі-хроматографії.
2. Ступінчасте осадження білків $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ призводить до більш ефективного фракціонування карбоксипептидази А з максимальним виходом ферменту при 80%-ному насиченні.
3. Стабільні за умов хроматографії молекулярні форми карбоксипептидази А у вихідному розчині та у фракції, що отримана після 20%-ного насичення сульфатом амонію, мають близькі молекулярні маси.
4. Карбоксипептидаза А, отримана після 40%-ного та 60%-ного насичення $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, під час хроматографії піддається обмеженій деградації із збереженням ферментативної активності.

Література

1. Вовчук І. Л. Активність карбоксипептидази А в новоутвореннях яєчника // Вісник ОНУ. — 2005. — Т. 10, № 5. — С. 36–41.
2. Вовчук І. Л., Чернадчук С. С., Блохін Ю. В., Раздражнюк Г. С. Активність карбоксипептидаз у тканинах новоутворень тіла матки // Вісник ОНУ. — 2004. — Т. 9, № 1. — С. 25–33.
3. Активність карбоксипептидази А в новоутвореннях молочної залози / І. Л. Вовчук, С. С. Чернадчук, Н. В. Мотрук, К. А. Філіпцова, С. І. Каланча, Л. М. Буюклі // Вісник ОНУ. — 2004. — Т. 9, № 5. — С. 29–37.
4. *Практическая химия белка*. Пер. с англ. / Под ред. А. Дарбре. — М.: Мир, 1989. — С. 39–43.
5. The amino acid sequence of bovine carboxypeptidase A. / Bradshaw R. A., Ericsson L. H., Walsh K. A., Neurath H. // Proc. Natl. Acad. Sci USA. — 1969. — Vol. 63. — P. 1389–1394.

6. Protein measurement with the Folin phenol reagent / Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr F. Z., Randal L. J. // *J. Biol. Chem.* — 1951. — Vol. 193. — P. 265–275.
7. *Рокицкий П. Ф.* Биологическая статистика. — Минск: Высшая школа, 1967. — 326 с.
8. *Неорганическая биохимия.* Т. 1. — М.: Мир, 1978. — С. 504–505.
9. *Колодзейская М. В., Пилявская А. С.* Пептидазы. — К.: Наук. Думка, 1982. — 176 с.

И. Л. Вовчук

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

**ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА КАРБОКСИПЕПТИДАЗЫ А ИЗ ТКАНИ
ЯИЧНИКА МЕТОДОМ ГЕЛЬ-ХРОМАТОГРАФИИ**

Резюме

Разработана методика выделения и очистки карбоксипептидазы А, состоящая из последовательного осаждения сульфатом аммония и гель-хроматографии на сефадексах G-75 и G-100. Установлено, что последовательное осаждение белков с помощью $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ приводит к более эффективному разделению карбоксипептидазы А по фракциям с максимальным выходом фермента при 80%-ном насыщении. Стабильные при условиях хроматографии молекулярные формы карбоксипептидазы А исходного раствора и фермента, осажденного при 20%-ном насыщении сульфата аммония, имеют близкие молекулярные массы, а фермент из фракций, полученных после 40%-ного та 60%-ного насыщения, во время хроматографии подвергается ограниченному протеолизу без нарушения активности.

Ключевые слова: карбоксипептидаза А, выделение ферментов, гель-хроматография.

I. L. Vovchuk

I. I. Mechnikov Odessa National University, Department of Biochemistry
Dvoryanskaya str., 2, Odessa, 65026, Ukraine

**EXTRACTING AND PURIFICATION OF CARBOXYPEPTIDASE A
FROM THE TISSUES OF OVARIUM BY GEL-CHROMATOGRAPHY
METHOD**

Summary

The method of extracting and purification of carboxypeptidase A consisting of step-by-step ammonium sulfate sedimentation and gel-chromatography on Sefadex G-75 and G-100 was obtained. It was studied that step-by-step sedimentation leads to more effective carboxypeptidase A division to fractions with the maximal exiting by 80% saturation. It was shown that stable under chromatography molecular forms of carboxypeptidase A from the initial solution and the 20% saturation fraction have similar molecular masses but the enzyme from 40% and 60% saturation fractions undergo limited proteolysis without breach of the activity.

Keywords: carboxypeptidase A, enzyme extracting, gel-chromatography

УДК 577.152.6:579.222

С. Г. Каракіс, ст. наук. співроб., **Т. І. Лавренюк**, мол. наук. співроб.,
О. Г. Драгоєва, мол. наук. співроб., **В. А. Сагаріц**, наук. співроб.,
Л. М. Карпов, д-р біол. наук, зав. кафедри
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра фізіології людини та тварин,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ОСОБЛИВОСТІ РЕГУЛЯЦІЇ ГЛУТАМІНСИНТЕАЗНОЇ АКТИВНОСТІ У МУТАНТНИХ ШТАМІВ *SPIRULINA* *PLATENSIS* З НАДСИНТЕЗОМ МЕТІОНІНУ

Ферментативна активність глутамінсинтетази (ГС, глутамат: аміак лігаза, АДФ; КФ 6.3.1.2) була визначена в клітинах батьківського штаму дикого типу (ДТ) та штамів *Spirulina platensis* 30Б та 198Б, отриманих на різних етапах селекції штамів з підвищеним вмістом метіоніну в біомасі. Вивчено вплив амінокислот на ГС-активність вищезгаданих штамів *in vitro*. Висловлено припущення, що значне підвищення цієї активності та зміни в її регуляції шляхом інгібування амінокислотами аспарагінової родини є одним із проявів мутацій, що мають відношення до шляхів біосинтезу метіоніну.

Ключові слова: *Spirulina*, мутанти, надсинтез метіоніну, глутамінсинтетаза, регуляція.

Ціанобактерії вважаються перспективними об'єктами фотоавтотрофних біотехнологій [1]. Однак, у даний час, незважаючи на зусилля вчених, серед ціанобактерій не селектовано промислових штамів-продуцентів вільних амінокислот. Тому вивчення особливостей метаболізму мутантів ціанобактерій, здатних до надсинтезу амінокислот, дуже важливе як для розуміння особливостей метаболізму ціанобактерій та механізмів його контролю, так і для селекції згаданих штамів-продуцентів.

Раніше нами опубліковано дані про селекцію мутантних штамів *Spirulina platensis*, стійких до *DL*-етіоніну — аналогу метіоніну, які були здатні до надсинтезу метіоніну та накопичували його в біомасі [2]. Кращий серед них мутантний штам 198Б був отриманий із штаму дикого типу (ДТ) *Sp. platensis* за допомогою нітрозогуанідинового мутагенезу внаслідок декількох етапів селекції на стійкість до *DL*-етіоніну. Вміст метіоніну в біомасі штаму 198Б був вищим, ніж у ДТ, в 2,2 раза, а за сумою амінокислот — в 1,6 раза. Надсинтез метіоніну у мутантних штамів як на проміжних, так і на кінцевому етапах селекції завжди супроводжувався надсинтезом майже всіх інших амінокислот, проте вміст метіоніну в загальній сукупності амінокислот підвищувався тільки у мутантів, отриманих після всіх стадій добору. На основі цього було вислов-

лено припущення, що мутанти з надсинтезом метіоніну мають генетично детерміновані порушення центрального метаболізму, які призводять до підвищення асиміляції неорганічного азоту в органічні азотовміщуючі сполуки, і що ці порушення є необхідною умовою для існування мутантів з мутаціями в шляхах біосинтезу метіоніну.

Із праць К. Охморі та М. Охморі [3] відомо, що у *Sp. platensis* більша частка NH_4^+ асимілюється шляхом послідовних реакцій, що каталізуються глутамінсинтетазою (ГС, глутамат: аміак лігаза, АДФ; КФ 6.3.1.2) та глутаматсинтазою (ГОГАТ, глутамін: α -оксоглутарат-аміотрансфераза, КФ 1.4.7.1), і лише незначна частка NH_4^+ асимілюється з участю аланіндегідрогенази. Глутаматдегідрогеназа участі в асиміляції NH_4^+ у *Sp. platensis* не приймає, а провідну роль у асиміляції NH_4^+ у циклі ГС-ГОГАТ відіграє глутамінсинтетаза. Із даних літератури відомо, що у *Sp. platensis* активність ГС регулюється шляхом інгібування амінокислотами та нуклеотидами, а також внутрішньоклітинним рівнем декількох двовалентних катіонів [4, 5]. Оскільки у штамів 30Б та 198Б загальний рівень амінокислот підвищувався на 15–20%, нами висловлено припущення, що мутанти *Sp. platensis*, здатні до надсинтезу метіоніну, мають підвищену активність ГС та певні зрушення в механізмах регуляції цього ферменту з допомогою амінокислот.

Мета даної роботи — порівняти рівні глутамінсинтезної активності в клітинах *Sp. platensis* вихідного штаму дикого типу та мутантних штамів 30Б та 198Б, здатних до надсинтезу метіоніну і отриманих на різних етапах селекції, а також з'ясувати вплив амінокислот на глутамінсинтезну активність цих штамів *in vitro*.

Матеріали та методи досліджень

В роботі використовували штами ціанобактерії *Arthrospira (Spirulina) platensis* (Nordst.) Geitl.: штам дикого типу Моїсе (ДТ) із колекції культур ціанобактерій Одеського національного університету ім. І. І. Мечникова та мутантні штами, отримані шляхом селекції на ознаку надсинтезу метіоніну, а саме — штам 30Б, отриманий на проміжному етапі селекції, у якого вміст метіоніну у біомасі був на 27% вищим, ніж у штаму ДТ, та штам 198Б, отриманий в кінці селекції, у якого вміст метіоніну у біомасі виявився в 2,2 раза вищим, ніж у штаму ДТ [2].

Для росту та розмноження бактерій використовували середовище Зарука [6].

Культури вирощували в умовах періодичного культивування при температурі 30°C, освітленні 4 клк та барботуванні повітрям.

Активність ГС вивчали в клітинах, відібраних в пізню логарифмічну фазу росту за одним із варіантів методики Шапіро і Штадмана (трансферазний тест), як описано в [7]. При цьому викори-

стовували неуряжені клітини, проникність яких для реагентів забезпечували шляхом їх обробки бромідом гексадецилтриметиламо-нію.

Вміст білка у суспензіях ціанобактерій визначали за методом Лоурі з деякими модифікаціями [8].

Результати дослідження

На рис. 1 наведені результати визначення глутамінсинтезної активності в клітинах штаму ДТ та штамів з надсинтезом метіоніну, отриманих на різних етапах селекції. Ці дані свідчать, що у проміжного штаму 30Б ГС-активність вища, ніж у штаму ДТ у 2 рази, а у штаму 198Б — у 4 рази.

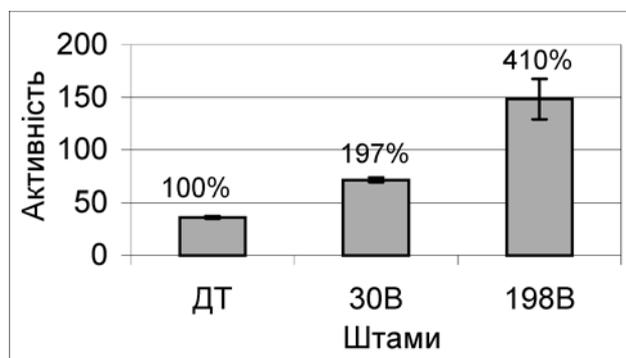


Рис. 1. Глутамінсинтезна активність у клітинах штамів *Arthrospira (Spirulina) platensis* (нмоль γ -глутамілгідроксамату/мг білка \times хв)

Отже, на основі наведених вище даних можна прийти до припущення, що підвищення загальної амінокислотної продукції у штаму 30Б на 15% та у штаму 198Б — на 20% у порівнянні з батьківським штамом ДТ [2] є наслідком значного підвищення ГС-активності в клітинах цих штамів.

Враховуючи вже відомий факт, що в регуляції активності ГС у *Sp. platensis* приймають участь амінокислоти [5], а також те, що у досліджуваних мутантних штамів 30Б та 198Б встановлено значне підвищення внутрішньоклітинного пулу вільних амінокислот у порівнянні з батьківським штамом ДТ [2], ми вивчили вплив деяких амінокислот на ГС-активність штамів 30Б, 198Б та ДТ *in vitro*. В експерименті використовували амінокислоти аспартатної родини — метіонін, лізин, ізолейцин, треонін та амінокислоти аланін, гліцин, серин, аспартат, сильна інгібуюча дія котрих на ГС із *Sp. platensis* була вже раніше встановлена в роботах Данг Хоанг Фиок Хьена із співавторами [5]. Особлива увага до дії амінокислот аспарагінової родини на ГС-активність була пов'язана з тим, що

мутантні штами 30Б та 198Б були отримані шляхом селекції штамів з підвищеним синтезом метіоніну на стійкість до DL-етіоніну — аналогу метіоніну [2]. Результати дослідження змін ГС-активності під впливом амінокислот у штамів 30Б, 198Б та ДТ представлені у табл. 1.

Таблиця 1

Вплив амінокислот на глутамінсинтезну активність різних штамів *Spirulina platensis* (in vitro)

Амінокислота (5 мМ)	Глутамінсинтезна активність (% від контролю)		
	Дикий тип	30Б	198Б
Контроль*	100	100	100
met	68,2±4,1	92,7±2,4	121,7±8,6
thr	63,1±4,7	93,3±2,1	164,1±2,4
ile	65,7±5,2	101,4±3,7	127,5±16,5
lys	66,2±2,8	103,1±1,5	92,7±12,0
asp	58,7±9,1	61,3±2,9	77,8±7,4
gly	43,2±3,0	46,9±0,7	45,9±3,5
ala	26,5±5,8	22,5±2,0	13,3±0,7
ser	38,9±6,9	77,9±6,3	51,2±2,5

* — контроль — вихідна глутамінсинтезна активність без додавання амінокислот

Наведені у табл. 1 дані свідчать, що максимальну інгібуючу дію на глутамінсинтезну активність штаму ДТ виявляють аланін, серин, гліцин та аспарагінова кислота. В концентрації 5 мМ ці амінокислоти пригнічують глутамінсинтезну активність на 73,5, 61,1, 56,8 та 41,3%, відповідно. Аналогічні результати були отримані в роботі [5]. Метіонін, треонін, ізолейцин та лізин також інгібують глутамінсинтезну активність штаму ДТ, однак у меншій мірі, ніж вище згадані амінокислоти. Інгібуюча дія цих амінокислот становить біля 30%.

Глутамінсинтезна активність штаму 30Б, як і глутамінсинтезна активність штаму ДТ, у найбільшій і майже однаковій мірі інгібується аланіном, гліцином та аспартатом. Однак, на відміну від штаму ДТ, ГС штаму 30Б частково втратила здібність до інгібування серином, метіоніном та треоніном. Інгібуюча дія серину на ГС-активність штаму 30Б становила 22%, а метіоніну і лізину — навіть менше 10%. Треонін та ізолейцин ГС-активність штаму 30Б не інгібували.

ГС-активність штаму 198Б, як і ГС-активність штаму ДТ та штаму 30Б, у найбільшій мірі інгібується аланіном, гліцином, серином та аспартатом. Однак, на відміну від штамів ДТ та 30Б (попередників), інгібуюча дія аланіну на ГС-активність штаму 198Б більш виражена, а інгібуюча дія аспартату — ослаблена. Інгібуюча дія серину на ГС-активність штаму 198Б значно слабша, ніж на ГС-активність штаму ДТ, однак, сильніша, ніж на ГС-активність

штаму 30Б. Окрім того, ГС штаму 198Б не тільки втратила здібність до інгібування метіоніном, треоніном та ізолейцином, а навпаки, активується цими амінокислотами на 22, 64 и 28%, відповідно. ГС-активність штаму 198Б, як і ГС-активність попереднього штаму 30Б, не зазнає змін під впливом лізину.

Обговорення отриманих результатів

В ході селекції штамів *Sp. platensis* з підвищеним вмістом метіоніну у біомасі нами не було виявлено жодного етіонінрезистентного мутанта, у котрого підвищення вмісту метіоніну не супроводжувалося б підвищенням вмісту майже всіх інших амінокислот. Тільки у мутантів, отриманих на кінцевому етапі селекції, мало місце значне підвищення вмісту метіоніну в сумі амінокислот на фоні загального підвищення пулу останніх [2]. На основі цих даних прийшли до припущення, що надсинтез метіоніну у мутантів проміжних етапів селекції здійснюється завдяки мутаційним змінам, обумовлюючим підвищення синтезу загальних попередників для синтезу амінокислот. У мутантів кінцевого етапу селекції надсинтез метіоніну обумовлюється, крім того, і мутаційними змінами окремих шляхів біосинтезу метіоніну, які ведуть до надсинтезу цієї амінокислоти.

Отже, виживання мутантів з мутаціями, що мають відношення до окремих шляхів біосинтезу метіоніну і призводять до його надсинтезу, можливе лише завдяки особливостям метаболізму цих організмів. Порівняння ГС-активності клітин селектованих штамів *Sp. platensis* з підвищеним вмістом метіоніну в біомасі та штаму ДТ довело, що характерною рисою штаму 198Б є значне підвищення ГС-активності. ГС-активність в клітинах штаму 198Б у 4 рази вища, ніж у вихідного штаму ДТ, і в 2 рази вища, ніж у штаму 30Б, отриманого на проміжному етапі селекції.

Проведені дослідження впливу амінокислот на ГС-активність цих штамів дозволили виявити значні відмінності в регуляції ГС-активності амінокислотами аспарагінової родини. У штаму 30Б була втрачена здатність до інгібування ГС лізином і ізолейцином, а інгібуюча дія треоніну та метіоніну була значно слабшою, ніж у випадку ДТ. У штаму 198Б метіонін, треонін та ізолейцин на тільки не інгібували ГС-активність, а навпаки, здійснювали її активацію; щодо лізину, то він взагалі не впливав на цю активність.

Отже, такі особливості метаболізму клітин штаму 198Б, як суттєве підвищення глутамінсинтезної активності, зміна регуляції ГС-активності від інгібування амінокислотами аспарагінової родини до активації метіоніном, треоніном, ізолейцином та втрата впливу на активність ГС лізином, можливо, є головною умовою існування мутантів з підвищеним вмістом метіоніну в загальному пулі амінокислот.

Висновки

1. Значне підвищення загального вмісту амінокислот у клітинах штамів 30Б та 198Б *Spirulina platensis* є наслідком значного зростання ГС-активності в цих клітинах.
2. Втрата клітинами здібності до інгібування ГС-активності амінокислотами аспарагінової родини та надбання здатності до активування ГС-активності метіоніном, треоніном та ізолейцином можна вважати головною умовою існування мутантів ціанобактерії *Spirulina platensis* з порушеннями шляхів біосинтезу метіоніну.

Література

1. Шестаков С. В. Перспективы использования фототрофных бактерий в биотехнологии // В кн.: Биотехнология, М.: Наука, 1984. — С. 212–215.
2. Селекція мутантних штамів *Spirulina platensis* з підвищеним вмістом метіоніну в біомасі / С. Г. Каракіс, О. Г. Драгоєва, Т. І. Лавренюк, В. А. Сагаріц, Л. М. Карпов // Вісник ОНУ. — 2005. — Т. 10, вип. 3. — С. 55–62.
3. Ohmori K., Ohmori M. Ammonium assimilation in the blue green alga *Spirulina platensis* // Jpn. J. Phycol. — 1988. — Vol. 36. — P. 12–16.
4. Специфичность и регуляция активности глутаминсинтетазы *Spirulina platensis* металлами / Данг Хоанг Фьюк Хьен, Н. А. Соловьева, З. Г. Евстигнеева, В. Л. Кретович // Доклады академии наук СССР. — 1988. — Т. 302, № 4. — С. 984–987.
5. Регуляция активности глутаминсинтетазы *Spirulina platensis* / Данг Хоанг Фьюк Хьен, Н. А. Соловьева, З. Г. Евстигнеева, В. Л. Кретович // Биохимия. — 1989. — Т. 54, вып. 2. — С. 292–298.
6. Zarrouk C. Contribution a l'etude d'une cyanophycee. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et photosynthese de *Spirulina maxima* Geitler. // Ph. D. Thesis, University of Paris. — 1966. — P. 85.
7. Методы общей бактериологии // Под ред. Ф. Герхардта и др. — М.: Мир, 1984. — С. 293–295.
8. Protein measurement with the folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. I. Farr, B. J. Randall // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 193, № 1. — P. 871–876.

**С. Г. Каракіс, Т. І. Лавренюк, Е. Г. Драгоєва, В. А. Сагаріц,
Л. М. Карпов**

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра физиологии человека и животных,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ГЛУТАМИНСИНТЕТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ У МУТАНТНЫХ ШТАММОВ SPIRULINA PLATENSIS, ОБЛАДАЮЩИХ СВЕРХСИНТЕЗОМ МЕТИОНИНА

Резюме

Ферментативная активность глутаминсинтетазы (ГС, глутамат: аммиак лигаза, АДФ; КФ 6.3.1.2) была определена в клетках родительского штамма дикого типа, а также штаммов 30Б и 198Б, полученных на разных этапах селекции штаммов *Spirulina platensis* с повышенным содержанием метионина в биомассе. Изучено

влияние аминокислот на ГС-активность вышеупомянутых штаммов in vitro. Выказано предположение, что значительное повышение этой активности и изменения ее регуляции путем ингибирования аминокислотами аспарагинового семейства является одним из проявлений мутаций, имеющих отношение к путям биосинтеза метионина.

Ключевые слова: Spirulina, мутанты, сверхсинтез метионина, глутаминсинтетаза, регуляция.

**S. G. Karakis, T. I. Lavrenjuk, E. G. Dragoeva, V. A. Sagarc,
L. M. Karpov**

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

**PECULIARITIES OF GLUTAMINE SYNTHETASE ACTIVITY
REGULATION IN SPIRULINA PLATENSIS MUTANT STRAINS
WITH METHIONINE SUPER SYNTHESIS**

Summary

Glutamine synthetase activity (GS, EC 6.3.1.2.) has been determined in cells of parental wild strain as well as 30B and 198B strains, received on different stages of Spirulina platensis strain selection with elevated content of methionine in biomass. The effect of amino acids on the GS activity from the above mentioned strains has been studied in vitro. It was suggested that considerable increasing of GS activity and alteration in its regulation by asparagine family amino acids feedback inhibition is one of the display mutations concerning to specific methionine biosynthetic pathways.

Keywords: Spirulina, mutants, methionine over synthesis, glutamine synthetase, regulation.

УДК: 577.16:502.08

О. О. Кокошкіна, ст. викладач, **О. В. Запорожченко**, канд. біол. наук, доц., зав. кафедри
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра біохімії,
вул. Дворянська 2, Одеса, 65026, Україна, e-mail: sana33@ukr.net

АКТИВНІСТЬ ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗИ, МАЛАТДЕГІДРОГЕНАЗИ І АЛКОГОЛЬДЕГІДРОГЕНАЗИ В ТКАНИНАХ ЩУРІВ ЗА ВВЕДЕННЯ НІКОТИНОВОЇ КИСЛОТИ

Досліджували активність лактатдегідрогенази, малатдегідрогенази і алкогольдегідрогенази в крові, печінці, нирках, мозку і тонкому кишечнику щурів після 30, 60, 120, 240 хв, 24 годин, 3 і 15 діб після внутрішньом'язового введення нікотинової кислоти в дозі 10 мг/кг ваги тварини. Активність досліджуваних ферментів змінювалась в тканинах щурів по-різному в залежності від часу після введення нікотинової кислоти.

Ключові слова: нікотинова кислота, лактатдегідрогеназа, малатдегідрогеназа, алкогольдегідрогеназа.

Вивчення впливу вітамінів на активність окисно-відновних ферментів має важливе значення в зв'язку з необхідністю застосування вітамінних препаратів при різних патологічних станах [1–9].

Враховуючи важливу роль в метаболізмі НАД-залежних ферментів, ми досліджували вплив нікотинової кислоти на активність деяких з них- лактатдегідрогенази, малатдегідрогенази і алкогольдегідрогенази в тканинах щурів.

Матеріали та методи

Дослідження проведені на 48 щурах лінії Вістар. Тваринам піддослідних груп, за виключенням контрольної (інтактні тварини — група 0), внутрішньом'язово вводили нікотинову кислоту в терапевтичній дозі 10 мг/кг маси. Через 30 хв (1 група), 60 хв (2 група), 120 хв (3 група), 240 хв (4 група), 24 години (5 група), три доби (6 група) та 15 діб (7 група) щурів декапітували за тіопенталового наркозу. Кількість тварин в кожній групі складала 6 тварин. В крові, гомогенатах печінки, нирок, мозку та тонкого кишечника спектрофотометрично визначали активність лактатдегідрогенази, малатдегідрогенази і алкогольдегідрогенази.

Результати обробляли, використовуючи описову статистику і непараметричний метод Манна — Уїтні з допомогою комп'ютерної програми статистичної обробки даних "Statistica 5.5" [10].

Результати дослідження та їх обговорення

Дослідження активності лактатдегідрогенази, малатдегідрогенази і алкогольдегідрогенази в тканинах щурів після введення нікотинової кислоти свідчать про те, що активність зазначених ферментів змінюється залежно від тканини і строку спостереження (табл. 1, 2, 3).

Активність лактатдегідрогенази в крові інтактних щурів після введення вітаміну РР суттєво не змінюється на протязі всіх строків експерименту (табл. 1). В печінці щурів активність ферменту сягала максимального значення через 120 хв (120%) та на 3 добу (125%) після введення нікотинової кислоти. В нирках вірогідна активація лактатдегідрогенази нікотиновою кислотою була виявлена тільки на 3 добу (115%) після ін'єкції нікотинової кислоти. В мозку щурів суттєвих змін активності лактатдегідрогенази не спостерігали. Для тонкого кишечника, на відміну від інших тканин, характерне вірогідне зниження активності лактатдегідрогенази у терміни, починаючи з 120 хв після введення нікотинової кислоти, у порівнянні з контролем.

Активність малатдегідрогенази в крові та нирках щурів змінювалася в залежності від органу в усі строки спостереження (табл. 2). В печінці через 120 хв після введення нікотинової кислоти активність ферменту була вірогідно знижена у порівнянні з контролем (75%).

Активність малатдегідрогенази в мозку суттєво підвищувалася майже в усі строки спостереження, а саме до 123% і 128% через 60 і 120 хв, до 141% і 143% через 240 хв і на 15 добу після введення вітаміну у порівнянні з інтактними тваринами ($p < 0,05$). Через 240 хв після введення нікотинової кислоти активність малатдегідрогенази у тонкому кишечнику складала 134% по відношенню до контролю ($p < 0,05$).

На відміну від лактат- і малатдегідрогенази активність алкогольдегідрогенази в крові щурів, що отримували нікотиніву кислоту, вірогідно підвищувалася в строки — 60 хв (154%), 24 год (146%) і зменшувалася на 3 (75%) і 15 добу (74%) у порівнянні з контролем (табл. 3). В печінці та тонкому кишечнику щурів активність алкогольдегідрогенази через 60 хв після введення нікотинової кислоти підвищувалася до 122% і 134% відповідно, а через 240 хв, на 3 і 15 добу суттєво зменшувалася по відношенню до інтактних тварин ($p < 0,05$). Для нирок характерне значне і вірогідне зростання активності зазначеного ферменту через 60 хв (142%) і 24 год (144%) після ін'єкції нікотинової кислоти. В мозку піддослідних тварин під впливом нікотинової кислоти спостерігали зниження активності алкогольдегідрогенази в усі строки спостереження по відношенню до контролю (30 хв — до 76%, 240 хв — до 69%, 24 год — до 82%, 15 доба — до 62%, $p < 0,05$).

Таблиця 1

Активність лактатдегідрогенази в тканинах щурів при введенні нікотинової кислоти (мкмоль НАДН/хв на 1 мг білка)

Тканини	Строки після ін'єкції нікотинової кислоти	M ± m	Медіана	± 95% межі	
Кров	Контроль	1.48±0.098	1.46	1.23	1.73
	30 хв	1.81±0.178	1.83	1.36	2.27
	60 хв	1.49±0.108	1.52	1.21	1.76
	120 хв	1.89±0.155	1.92	1.49	2.29
	240 хв	1.79±0.189	1.20	1.31	2.29
	24 год	1.49±0.199	1.40	0.949	1.97
	3 діб	1.68±0.262	1.58	1.00	2.35
	15 діб	1.48±0.189	1.48	0.993	1.97
Печінка	Контроль	6.16±0.304	5.87	5.37	6.94
	30 хв	6.94±0.456	7.18	5.77	8.11
	60 хв	6.44±0.876	6.29	4.19	8.69
	120 хв	7.40±0.336 *	7.60	6.54	8.27
	240 хв	7.11±0.268	7.09	6.42	7.80
	24 год	6.81±0.449	7.19	5.65	7.19
	3 діб	7.71±0.521 *	7.60	6.37	9.04
	15 діб	7.21±0.515	6.82	5.89	8.54
Нирки	Контроль	3.30±0.143	3.35	2.93	3.67
	30 хв	3.33±0.139	3.50	2.97	3.68
	60 хв	3.27±0.126	3.21	2.95	3.59
	120 хв	3.50±0.307	3.37	2.71	4.29
	240 хв	3.39±0.234	3.22	2.79	3.99
	24 год	3.20±0.146	3.07	2.82	3.59
	3 діб	3.80±0.124 *	3.89	3.48	4.12
	15 діб	3.34±0.196	3.35	2.83	3.84
Мозок	Контроль	1.72±0.208	1.61	1.19	2.26
	30 хв	1.70±0.202	1.54	1.18	2.21
	60 хв	1.76±0.219	1.77	1.20	2.32
	120 хв	1.74±0.127	1.68	1.41	2.07
	240 хв	1.51±0.111	1.48	1.23	1.80
	24 год	1.81±0.138	1.75	1.45	2.16
	3 діб	1.86±0.402	1.98	0.822	2.89
	15 діб	2.09±0.544	1.82	0.692	3.49
Тонк. кишечник	Контроль	6.36±0.524	6.29	5.01	7.70
	30 хв	5.83±0.278	5.73	5.11	6.55
	60 хв	4.62±1.080	4.05	1.84	7.41
	120 хв	2.89±0.311 *	2.93	2.09	3.69
	240 хв	3.08±0.152 *	3.21	2.69	4.47
	24 год	3.82±0.342 *	3.56	2.94	4.70
	3 діб	3.19±0.534 *	2.81	1.84	4.56
	15 діб	3.43±0.227 *	3.63	2.84	4.01

Примітка: * — $p < 0,05$ по відношенню до контролю.

Активність малатдегідрогенази в тканинах щурів при введенні нікотинової кислоти (мкмоль НАДН/хв на 1 мг білка)

Тканини	Строки після ін'єкції нікотинової кислоти	M ± m	Медіана	± 95% межі	
Кров	Контроль	3.88±0.201	3.77	3.36	4.39
	30 хв	3.87±0.212	4.05	3.29	4.38
	60 хв	4.00±0.340	3.93	3.12	4.87
	120 хв	4.45±0.538	4.14	3.06	5.83
	240 хв	4.40±0.851	4.60	2.21	6.59
	24 год	4.09±0.282	4.00	3.36	4.81
	3 діб	3.44±0.351	3.21	2.54	4.35
	15 діб	3.67±0.239	3.80	3.06	4.28
Печінка	Контроль	14.06±0.973	14.29	11.56	16.56
	30 хв	13.57±1.050	12.97	10.87	16.28
	60 хв	13.27±0.881	13.03	11.00	15.53
	120 хв	10.53±0.852 *	10.84	8.34	12.72
	240 хв	13.62±0.407	13.80	12.58	14.67
	24 год	12.76±0.760	12.74	10.80	14.71
	3 діб	13.38±0.600	12.84	11.83	14.92
	15 діб	12.86±0.711	12.71	11.04	14.69
Нирки	Контроль	7.63±0.288	7.39	6.89	8.36
	30 хв	7.55±0.340	7.67	6.67	8.42
	60 хв	7.30±0.554	7.31	5.87	8.72
	120 хв	6.72±0.556	6.16	5.26	8.17
	240 хв	8.08±0.589	8.35	6.56	9.59
	24 год	7.48±0.558	7.26	6.89	8.07
	3 діб	6.81±0.050	6.86	5.51	8.10
	15 діб	7.24±0.606	7.68	5.68	8.80
Мозок	Контроль	7.77±0.358	8.03	6.85	8.69
	30 хв	7.57±0.711	7.66	5.74	9.40
	60 хв	9.57±0.529 *	9.77	8.20	10.93
	120 хв	9.91±0.435 *	9.63	8.79	11.03
	240 хв	10.99±0.622 *	11.24	9.39	12.59
	24 год	9.93±0.528 *	10.03	8.57	11.29
	3 діб	8.98±0.562	8.99	7.53	10.42
	15 діб	11.11±1.01 *	10.48	8.52	13.69
Тонк. кишечник	Контроль	9.99±0.525	9.76	8.64	11.33
	30 хв	9.84±0.316	9.63	9.03	10.66
	60 хв	10.87±0.871	10.78	8.63	13.11
	120 хв	11.75±0.719	12.04	9.89	13.59
	240 хв	13.37±1.41 *	12.09	9.74	17.00
	24 год	12.27±0.987	12.47	9.73	14.81
	3 діб	10.25±0.486	10.35	8.99	11.50
	15 діб	8.98±1.00	8.38	6.41	11.56

Примітка: * — $p < 0,05$ по відношенню до контролю.

Таблиця 3

Активність алкогольдегідрогенази в тканинах щурів при введенні нікотинової кислоти (мкмоль НАДН/хв на 1 мг білка)

Тканини	Строки після ін'єкції нікотинової кислоти	M ± m	Медіана	± 95% межі	
Кров	Контроль	9.18±0.384	9.47	8.20	10.17
	30 хв	10.60±1.10	10.13	7.78	13.42
	60 хв	14.12±0.880 *	14.21	11.86	16.38
	120 хв	10.71±0.904	10.49	8.39	13.03
	240 хв	9.49±0.447	9.34	8.34	10.63
	24 год	13.37±0.403 *	13.59	12.28	14.35
	3 діб	6.93±0.472	6.47	5.72	8.15
	15 діб	6.78±0.401 *	6.73	5.75	7.81
Печінка	Контроль	23.49±0.916	23.11	21.14	25.84
	30 хв	23.40±0.640	23.11	21.76	25.05
	60 хв	28.55±1.38 *	28.22	24.99	32.10
	120 хв	21.33±1.09	21.96	18.52	24.14
	240 хв	19.03±1.12 *	18.59	16.14	21.91
	24 год	23.36±1.00	22.74	20.77	25.94
	3 діб	19.62±1.52 *	18.77	15.71	23.53
	15 діб	17.43±0.785 *	16.92	15.41	19.45
Нирки	Контроль	11.55±0.714	11.83	9.72	13.39
	30 хв	11.35±1.27	11.24	8.08	14.62
	60 хв	16.42±0.818 *	16.18	14.31	18.52
	120 хв	12.66±0.705	13.16	10.85	14.48
	240 хв	12.12±0.626	12.52	10.51	13.73
	24 год	16.66±0.472 *	16.52	15.45	17.87
	3 діб	11.54±0.462	11.88	10.35	12.73
	15 діб	10.75±0.614	11.15	9.17	12.33
Мозок	Контроль	4.16±0.253	4.25	3.51	4.81
	30 хв	3.18±0.322 *	3.54	2.35	4.01
	60 хв	3.30±0.458	3.28	2.13	4.48
	120 хв	3.62±0.317	3.55	2.80	4.43
	240 хв	2.89±0.192 *	2.92	2.39	3.38
	24 год	3.27±0.201 *	3.21	2.75	3.79
	3 діб	3.43±0.269	3.65	2.73	4.12
	15 діб	2.56±0.281 *	2.75	1.84	3.29
Тонк. кишечник	Контроль	13.06±0.602	12.99	11.52	14.61
	30 хв	13.32±0.827	13.19	11.19	15.45
	60 хв	17.46±0.961 *	18.51	14.99	19.93
	120 хв	12.38±0.988	11.72	9.84	14.92
	240 хв	8.56±0.358 *	8.54	7.64	9.48
	24 год	14.52±1.25	13.83	11.30	17.74
	3 діб	9.67±0.424 *	9.77	8.58	10.76
	15 діб	8.48±0.694 *	8.10	6.69	10.26

Примітка: * — $p < 0,05$ по відношенню до контролю.

Підсумовуючи отримані результати, слід зазначити, що парентеральне введення нікотинової кислоти виявляє значний вплив на активність лактатдегідрогенази, малатдегідрогенази і алкогольдегідрогенази в досліджуваних тканинах щурів, за виключенням крові і мозку у випадку лактатдегідрогенази, а також крові і нирок у випадку малатдегідрогенази.

Висновки

1. Після парентерального введення нікотинової кислоти виявлено суттєве підвищення активності лактатдегідрогенази в печінці щурів у ранні строки досліду і зниження активності ферменту в тонкому кишечнику в усі строки спостереження.

2. Застосування нікотинової кислоти сприяло активації малатдегідрогенази в мозку і тонкому кишечнику на фоні зниження активності ферменту в печінці щурів у ранні строки експерименту.

3. Введення нікотинової кислоти викликає значне підвищення активності алкогольдегідрогенази в крові, печінці і нирках, а також зниження активності цього ферменту в мозку щурів у ранні строки дослідження. Для тканин тонкого кишечника характерне зростання активності алкогольдегідрогенази через 60 хв і суттєве зниження через 240 хв після ін'єкції нікотинової кислоти.

Література

1. Гильмиярова Ф. Н., Радомская В. М., Башева Г. М. и др. Роль гиперлактатдегидрогеназемии в индукции метаболических нарушений в организме // Вопр. мед. химии. — 2001. — Т. 47, вып. 5. — С. 14–17.
2. Зимин Ю. В., Сяткин С. П., Березов Т. Т. Молекулярные механизмы метаболической адаптации патологически измененной печени при токсическом гепатите // Вопр. мед. химии. — 2001. — Т. 47, вып. 3. — С. 7–11.
3. Биохимия человека: В 2 т. Т. 1 / В. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл. — М.: Мир, 2004. — 381 с.
4. Розанов А. Я. Механизмы регуляции биокатализа. — К.: Вища школа, 1989. — 240 с.
5. Розанов А. Я., Трещинский А. И., Хмелевский Ю. В. Ферментативные процессы и их коррекция при экстремальных состояниях. — К.: Здоров'я, 1989. — 240 с.
6. Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы. — М.: Мир, 1986. — 374 с.
7. Хухо Ф. Нейрохимия: Основы и принципы. — М.: Мир, 1990. — 384 с.
8. Bell J. K., Yennawar H. P., Kirk S. Structural Analyses of a Malate Dehydrogenase with a Variable Active Site // J. Biol. Chem. — 2001. — Vol. 276, N 33. — P. 31156–31162.
9. Wu Xiaomao, Gutfreund H., Lakatos S., Chock P. B. Substrate channeling in glycolysis: A phantom phenomenon // Proc. Nat. Acad. Sci USA. — 1991. — Vol. 88, N 2. — P. 497–501.
10. Боровиков В. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов. — СПб.: Питер, 2001. — 656 с.

О. А. Кокошкина, А. В. Запорожченко

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина,
e-mail: sana33@ukr.net

**АКТИВНОСТЬ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ,
МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗЫ
В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ НИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ**

Резюме

Исследовали активность лактатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы и алкогольдегидрогеназы в крови, печени, почках, мозге и тонком кишечнике крыс после 30, 60, 120, 240 мин, 24 часов, трех и 15 суток после внутримышечного введения никотиновой кислоты в дозе 10 мг/кг массы животного. Активность исследуемых ферментов изменялась по-разному в тканях крыс в зависимости от времени после введения никотиновой кислоты.

Ключевые слова: никотиновая кислота, лактатдегидрогеназа, малатдегидрогеназа, алкогольдегидрогеназа.

O. A. Kokoshkina, A. V. Zaporozhchenko

Odessa Mechnikov National University,
Department of Biochemistry,
Dvoryanska st., 2, 65026, Odessa, Ukraine,
sana33@ukr.net

**ACTIVITY OF LACTATE DEHYDROGENASE, MALATE
DEHYDROGENASE AND ALCOGOL DEHYDROGENASE IN THE
TISSUES OF RATS AFTER THE NICOTINIC ACID INJECTION**

Summary

The activity of lactate dehydrogenase, malate dehydrogenase and alcogol dehydrogenase from rat blood, liver, kidneys, brain and small intestines has been studied after 30, 60, 120, 240 minutes, 24 hours, 3 and 15 days after 10 mg/kg nicotinic acid (NA) injection. Enzyme activity changing in the tissues at the different terms after NA application has been observed.

Keywords: nicotinic acid, lactate dehydrogenase, malate dehydrogenase and alcogol dehydrogenase.

УДК 616.155.194.18+577.121+616.29]-092.9

О. І. Станев¹, асп., **О. В. Запорожченко**¹, доц., **Л. М. Карпов**¹, проф.,
С. Г. Коломійчук², наук. співроб., **О. О. Косошкіна**¹, асист.,
Л. А. Преснова¹, наук. співроб.

¹ Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
кафедра біохімії і кафедра фізіології людини і тварин,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна, sana33@ukr.net

² Інститут очних хвороб та тканинної терапії
ім. В. П. Філатова АМН України, лабораторія біохімії,
Французький бульвар, 49/51, Одеса, 65061, Україна

ВПЛИВ РІЗНИХ ШТАМІВ СПІРУЛІНИ НА ВМІСТ ЛАКТАТУ, МАЛАТУ ТА ПІРУВАТУ В ОРГАНАХ ЩУРІВ ЗА ГЕМОЛІТИЧНОЇ АНЕМІЇ

Визначали вміст лактату, малату та пірувату, співвідношень лактат/піруват, малат/піруват, а також НАД/НАДН і НАДФ/НАДФН в органах щурів за гемолітичної анемії та при застосуванні різних штамів спіруліни. Встановлено, що за дії фенілгідразину вміст лактату, малату та пірувату в досліджуваних органах щурів змінюється в різній мірі і напрямках, а співвідношення НАД/НАДН, як правило, зменшується. Застосування спіруліни сприяло корекції зазначених змін.

Ключові слова: гемолітична анемія, лактат, малат, піруват, спіруліна.

З'ясуванню механізмів регуляції кровотворної системи за різних умов функціонування присвячено багато робіт як в країнах СНД, так і зарубіжних авторів [1, 2, 3]. Гемолітичні анемії становлять велику групу захворювань, що розрізняються за етіологією, патогенезом, клінічною картиною, методами лікування. Основною ознакою гемолітичних анемій є підвищене руйнування еритроцитів і накопичення у крові продуктів розпаду гемоглобіну (білірубін).

Одним із засобів лікування гемолітичної анемії є прийом препаратів *Spirulina platensis* [4]. При їх застосуванні рівень гемоглобіну повертається до норми, підвищується засвоєння заліза еритроцитами [5, 6].

Відомо, що важливим показником енергетичного стану клітини є загальний вміст нікотинамідних коферментів у ній та співвідношення їх вільних форм в окремих компартментах [7, 8]. Окиснювально-відновлювальний статус нікотинамідних коферментів відіграє важливу регуляторну роль у клітинному метаболізмі, оскільки співвідношення НАД/НАДН і НАДФ/НАДФН визначає швидкість і напрям зворотних реакцій оксидоредукції та регулює функціонування загальних метаболічних шляхів у клітині [8]. Отже, від зміни співвідношення НАД/НАДН залежить роль анаеробного шляху окиснення глюкози, де лактат є кінцевим продуктом гліко-

лізу, а також аеробного обміну, у якому лактат після перетворення в піруват окиснюється у циклі трикарбонових кислот [9]. Від зміни співвідношення НАДФ/НАДФН залежить інтенсивність ліпогенезу, за якого малат декарбоксилується до пірувату та утворюється НАДФН. В організмі тварин піруват є одним із центральних метаболітів, що беруть участь у багатьох ферментативних процесах.

Метою наших досліджень є вивчення можливості застосування різних штамів *Spirulina platensis* для корекції вмісту субстратів НАД-залежних дегідрогеназних систем та співвідношень нікотинамідних коферментів в умовах фенілгідразинової гемолітичної анемії у щурів.

Матеріали і методи

Дослідження виконано на білих щурах (самцях) лінії Вістар масою 180–200 г, які були поділені на 5 груп, по 8 у кожній. Перша група тварин (інтактні) була контрольною (контроль-1). Іншим чотирьом групам вводили для моделювання гемолітичної анемії фенілгідразин (ФГ) внутрішньом'язово (в/м) у дозі 20 мг/кг протягом 4-х днів. Одна з них була групою порівняння (контроль-2), а трьом останнім, крім того, вводили внутрішньошлунково (в/ш) суспензію клітин різних штамів спіруліни у фізіологічному розчині по 1 мл, в розрахунку 250 мг сирової ваги на кг маси щодня протягом 2-х тижнів, починаючи з другого дня після першої ін'єкції фенілгідразину. Вивчали дію дикого типу *Sp. platensis* (група 3) та штамів 198-B (група 4) і 27-G (група 5) (останні два отримані в лабораторії фізіологічно активних речовин ОНУ ім. І. І. Мечникова). У дослід тварин брали через 3 тижні після введення ФГ. В органах щурів визначали вміст лактату, малату і пірувату.

Лактат і малат визначали за методом Хохорста, а піруват — за методом Цока і Лампрехта [10]. Співвідношення вільних НАД/НАДН та НАДФ/НАДФН визначали на основі констант рівноваги лактатдегідрогеназної та малатдегідрогеназної реакцій [8, 11].

Результати оцінювали за загальноприйнятим t-критерієм Ст'юдента [12].

Результати досліджень

Результати визначення вмісту лактату, малату, пірувату, співвідношень лактат/піруват, малат/піруват, а також співвідношення цитоплазматичних нефосфорильованих і фосфорильованих окиснених нікотинамідних коферментів до відновлених представлені в таблицях 1 і 2.

З'ясувалося, що за введення ФГ вміст лактату вірогідно підвищувався у нирках та серці до 152 та 147% відповідно, а піруват вірогідно зменшувався у печінці та серці до 51% щодо контролю-1. Рівень малату вірогідно зменшувався у мозку та серці до 68 та 50% відносно контролю-1.

Таблиця 1
Вплив штамів *Sp. platensis* на вміст лактату та пірувату (мкмоль/г тканини) і співвідношення НАД/НАДН в органах шурів за гемолітичної анемії, n = 8

Органи	Субстрати	Контроль-1 (інтактні)	Контроль-2 (ФГ в/м)	ФГ (в/м) ⁺ <i>Sp. platensis</i> (дикий тип) (в/ш)	ФГ (в/м) ⁺ <i>Sp. platensis</i> (198-B) (в/ш)	ФГ (в/м) + <i>Sp. platensis</i> (27-G) (в/ш)
Печінка	Лактат (Л)	1,397 ± 0,074	1,127 ± 0,083 *	1,571 ± 0,109 **	2,266 ± 0,188 */ **	1,895 ± 0,163 */ **
	Піруват (П)	0,191 ± 0,014	0,098 ± 0,010 *	0,135 ± 0,011 */ **	0,135 ± 0,014 *	0,156 ± 0,018 **
	Л/П	7,563 ± 0,711	12,533 ± 1,790 *	12,065 ± 1,048 *	18,910 ± 3,257 *	13,827 ± 2,243 *
	НАД/НАДН	1256,035 ± 100,560	815,503 ± 100,016 *	808,121 ± 105,377 *	589,904 ± 106,774 *	855,328 ± 204,801
Нирки	Лактат	1,047 ± 0,059	1,597 ± 0,095 *	1,561 ± 0,102 *	1,160 ± 0,130 **	1,158 ± 0,108 **
	Піруват	0,160 ± 0,010	0,163 ± 0,012	0,192 ± 0,017	0,130 ± 0,012	0,105 ± 0,007 */ **
	Л/П	6,685 ± 0,511	10,138 ± 0,855 *	8,562 ± 0,975	9,349 ± 1,297	11,073 ± 0,970 *
	НАД/НАДН	1404,668 ± 108,190	938,973 ± 86,523 *	1126,357 ± 94,721	1117,202 ± 173,403	884,187 ± 119,481 *
Мозок	Лактат	1,210 ± 0,090	1,432 ± 0,127	1,591 ± 0,134	1,307 ± 0,139	0,896 ± 0,090 */ **
	Піруват	0,171 ± 0,019	0,212 ± 0,011	0,201 ± 0,020	0,124 ± 0,012 **	0,101 ± 0,008 */ **
	Л/П	7,998 ± 1,589	6,911 ± 0,751	8,499 ± 1,138	11,156 ± 1,462 **	9,546 ± 1,572
	НАД/НАДН	1313,777 ± 143,988	1414,995 ± 151,636	1190,103 ± 151,775	898,912 ± 104,731 **	1110,668 ± 159,731
Серце	Лактат	2,124 ± 0,120	3,126 ± 0,129 *	2,885 ± 0,135 *	3,217 ± 0,294 *	3,242 ± 0,190 *
	Піруват	0,227 ± 0,021	0,115 ± 0,011 *	0,154 ± 0,019 *	0,174 ± 0,016 **	0,126 ± 0,012 *
	Л/П	10,024 ± 1,110	29,456 ± 3,754 *	20,563 ± 2,488 *	19,429 ± 2,518 *	26,615 ± 1,743 *
	НАД/НАДН	963,265 ± 87,091	340,143 ± 39,331 *	480,301 ± 53,445 *	527,113 ± 73,556 *	348,755 ± 22,549 *

Примітки: * — різниця з контролем 1 вірогідна (p<0,05); ** — різниця з контролем 2 вірогідна (p<0,05).

Вплив штамів *Sp. platenis* на вміст малагу та пірувагу (мкмоль/г тканини), і співвідношення НАДФ/НАДФН в органах шурів за гемолітичної анемії, n = 8

Органи	Субстрати	Контроль-1 (інтактні)	Контроль-2 (ФГ в/м)	ФГ (в/м) ⁺ <i>Sp. platenis</i> (дикий тип) (в/ш)	ФГ (в/м) ⁺ <i>Sp. platenis</i> (198-B) (в/ш)	ФГ (в/м) ⁺ <i>Sp. platenis</i> (27-G) (в/ш)
Печінка	Малаг (М)	0,764 ± 0,073	0,685 ± 0,028	0,696 ± 0,030	0,615 ± 0,045	0,619 ± 0,042
	Піруват (П)	0,191 ± 0,014	0,098 ± 0,010 *	0,135 ± 0,011 */ **	0,135 ± 0,014 *	0,156 ± 0,018 **
	М/П	4,190 ± 0,576	7,536 ± 0,831 *	5,432 ± 0,576	4,912 ± 0,605 **	4,357 ± 0,599 **
Нирки	НАДФ/НАДФН	0,009 ± 0,001	0,005 ± 0,001 *	0,007 ± 0,001	0,008 ± 0,001	0,009 ± 0,001
	Малаг	0,456 ± 0,025	0,415 ± 0,032	0,434 ± 0,041	0,432 ± 0,033	0,370 ± 0,029
	Піруват	0,160 ± 0,010	0,163 ± 0,012	0,192 ± 0,017	0,130 ± 0,012	0,105 ± 0,007 */ **
Мозок	М/П	2,908 ± 0,220	2,630 ± 0,251	2,292 ± 0,117 *	3,475 ± 0,335	3,610 ± 0,333
	НАДФ/НАДФН	0,012 ± 0,001	0,014 ± 0,001	0,015 ± 0,001 *	0,010 ± 0,001	0,010 ± 0,001 **
	Малаг	0,609 ± 0,036	0,414 ± 0,030 *	0,409 ± 0,031 *	0,501 ± 0,040	0,406 ± 0,026 *
Серце	Піруват	0,171 ± 0,019	0,212 ± 0,011	0,201 ± 0,020	0,124 ± 0,012 **	0,101 ± 0,008 */ **
	М/П	3,775 ± 0,304	1,959 ± 0,120 *	2,143 ± 0,223 *	4,389 ± 0,740 **	4,143 ± 0,326 **
	НАДФ/НАДФН	0,009 ± 0,001	0,018 ± 0,001 *	0,017 ± 0,002 *	0,009 ± 0,001 **	0,009 ± 0,001 **
Піруват	Малаг	0,637 ± 0,029	0,317 ± 0,023 *	0,374 ± 0,030 *	0,569 ± 0,049 **	0,550 ± 0,057 **
	М/П	0,227 ± 0,021	0,115 ± 0,011 *	0,154 ± 0,019 *	0,174 ± 0,016 **	0,126 ± 0,012 *
	НАДФ/НАДФН	3,109 ± 0,498	2,934 ± 0,326	2,830 ± 0,572	3,477 ± 0,430	4,600 ± 0,553 **
НАДФ/НАДФН	0,012 ± 0,001	0,013 ± 0,002	0,015 ± 0,002	0,011 ± 0,002	0,008 ± 0,001	

Примітки: * — різниця з контролем 1 вірогідна (p<0,05); ** — різниця з контролем 2 вірогідна (p<0,05).

Встановлено, що застосування штамів спіруліни при моделюванні гемолітичної анемії впливає на вміст лактату, малату, пірувату в органах щурів у різній мірі в залежності від тканини. У тварин, які водночас отримували ФГ та дикий тип *Sp. platensis* спостерігалось вірогідне підвищення лактату у печінці до 139%, а рівень пірувату вірогідно підвищувався до 138% щодо контролю-2.

У групі тварин з гемолітичною анемією, які отримували штам 198-В, вірогідно підвищувався рівень лактату у печінці до 201% та зменшувався у нирках до 72% відносно контролю-2. Вміст пірувату зменшувався у мозку та серці до 72 та 76% відносно контролю-2 відповідно. Вміст малату вірогідно зростав у серці до 179% у порівнянні з контролем-2.

У тварин, які водночас отримували ФГ та штам 27-Г, вірогідно підвищувався вміст лактату у печінці до 168% і зменшувався у нирках та мозку до 72% та 62% щодо контролю-2. Вміст пірувату зменшувався відносно контролю-2 у нирках та мозку до 65% та 47% відповідно. Рівень малату вірогідно підвищувався у серці до 173% відносно контролю-2.

За оцінки співвідношення відновлених субстратів до окиснених було з'ясовано, що у групі щурів, які отримували лише ФГ, воно вірогідно підвищувалося у печінці, нирках та серці тварин у порівнянні з контролем-1. При застосуванні дикого типу і штаму 198-В водночас з ФГ в нирках та серці спостерігалися протилежні зміни щодо контролю-2. Виявлене збільшення співвідношення лактату до пірувату свідчить про активацію анаеробних процесів, а зменшення — аеробних. У групі тварин, які отримували тільки ФГ (контроль-2), співвідношення малат/піруват вірогідно підвищувалося у печінці та знижувалося у мозку щодо контролю-1. Протилежні зміни спостерігалися при сумісному застосуванні ФГ та спіруліни у печінці та мозку щодо контролю-2. Збільшення співвідношення малат/піруват свідчить про зменшення інтенсивності ліпогенезу, а зменшення — про його активацію, що спостерігалось у печінці.

Аналіз співвідношення НАД/НАДН виявив його вірогідне зменшення в групі тварин, які отримували ФГ, а саме в печінці, нирках та серці щодо контролю-1. В нирках та серці тварин, які водночас отримували ФГ та *Sp. platensis* (дикий тип і 198-В), спостерігалися протилежні зміни щодо контролю-2. Підвищення відновленості НАД і накопичення НАДН в тканинах щурів може свідчити про інгібування процесів гліколізу і активацію глюконеогенезу [13, 14]. У групі тварин, які отримували ФГ, спостерігалось вірогідне зменшення співвідношення НАДФ/НАДФН в печінці та підвищення у мозку щодо контролю-1. Збільшення співвідношення НАДФ/НАДФН спостерігалось в печінці, а зменшення — в мозку у тварин, які водночас отримували ФГ та *Sp. platensis* щодо контролю-2.

Найбільш виразний позитивний вплив на співвідношення лактату до пірувату за фенілгідразинової анемії виявлявся у тварин, що отримували дикий тип спіруліни та штам 198-В. Це спостерігали у нирках, мозку та серці. На співвідношення малату до пірувату у печінці та мозку позитивно впливали всі штами *Sp. platensis*.

Висновки

1. Після введення фенілгідазину в різних тканинах щурів з неоднаковою інтенсивністю змінюється вміст лактату, малату і пірувату. Виявлений перерозподіл метаболітів НАД- та НАДФ-дегідрогеназних систем — лактату, малату і пірувату — зумовлює підвищення співвідношення лактат/піруват і малат/піруват у досліджуваних тканинах.

2. Введення фенілгідазину тваринам викликає зменшення співвідношення вільних НАД/НАДН і НАДФ/НАДФН у тканинах, що свідчить про спрямування енергетичних процесів у бік глюконеогенезу та ліпогенезу.

3. Отримані дані свідчать про можливість застосування штамів спіруліни для корекції окиснювально-відновлювальних процесів у тканинах щурів за гемолітичної анемії.

Література

1. Сулова М. Н., Павлов А. Д., Морщакова Е. Ф. Динамика содержания тиреоидных гормонов в сыворотке крови при фенилгидразиновой и острой постгеморрагической анемиях // Пат. физиология и эксп. терапия. — 1994. — № 4. — С. 37–38.
2. Авдеева М. Г., Мойсова Д. Л., Городин В. Н. и др. Роль глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в патогенезе анемии при лептоспирозе // Клиническая медицина. — 2002. — № 6. — С. 42–44.
3. Valentini G., Chiarelli L. R., Fortin R. et al. Structure and Function of Human Erythrocyte Pyruvate Kinase. Molecular basis of nonspherocytic hemolytic anemia // J. Biol. Chem. — 2002. — Vol. 277. — P. 23807–23814.
4. Takeuchi T. Clinical experiences of administration of Spirulina to patients with hypochromic anaemia. — Japan: Tokyo Medical and Dental University. — 1997. — 89 p.
5. Seshadri C. V., Villiammai V. The study of haemoglobin levels in humans fed on Spirulina supplement // Mono. Ser. Photosyn. — 1990. — Vol. 30. — P. 8–12.
6. Johnson P., Shubert E. Availability of iron to rats from Spirulina, a blue-green algae // Nutr. Rec. — 1988. — N 6. — P. 85–94.
7. Леутский К. М. Никотиновая кислота. Витамин РР. — Л., 1974. — С. 18–47, 181.
8. Великий Н. Н., Пархомец П. К. Роль окислительно-восстановительного состояния никотинамидных коферментов в регуляции клеточного метаболизма // Витамины. — 1976. — № 9. — С. 3–15.
9. Островский Ю. М., Величко М. Г., Якубчик Т. Н. Пируват и лактат в животном организме. — Минск: Наука и техника, 1984. — С. 6–24.
10. Bergmeyer H. U. Methoden der enzymatischen Analyse / Herausgegeben von H. U. Bergmeyer. — Berlin, 1970. — S. 1536–1539.
11. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. — 272 с.
12. Математический анализ биологических данных / Под ред. Г. Н. Зайцева. — М.: Наука, 1991. — 184 с.
13. Greenbaum A. L., Guma 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, N 2. — P. 617–663.
14. Великий Н. Н., Кучмеровская Т. М., Пархомец П. К. Окислительно-восстановительное состояние свободных никотинамидных коферментов и синтез фосфоенолпирувата в печени крыс и морских свинок // Укр. биохим. журн. — 1981. — Т. 53, № 1. — С. 60–66.

**А. И. Станев, А. В. Запорожченко, Л. М. Карпов, С. Г. Коломийчук,
О. А. Кокошкина, Л. А. Преснова**

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

ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ ШТАММОВ СПИРУЛИНЫ НА СОДЕРЖАНИЕ ЛАКТАТА, МАЛАТА И ПИРУВАТА В ОРГАНАХ КРЫС ПРИ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ

Резюме

Определяли содержание лактата, малата и пирувата, соотношения лактат/пируват, малат/пируват, а также НАД/НАДН и НАДФ/НАДФН в органах крыс при гемолитической анемии с применением различных штаммов спирулины. Установлено, что при действии фенилгидразина содержание лактата, малата и пирувата изменяется в исследуемых органах крыс в различной степени и направлениях, а соотношение НАД/НАДН, как правило, уменьшается. Применение спирулины положительно влияло на отмеченные изменения.

Ключевые слова: гемолитическая анемия, лактат, малат, пируват, спирулина.

**A. I. Stanev, A.V. Zaporozhchenko, L. M. Karpov, S.G. Kolomiychuk,
O. A. Kokoshkina, L. A. Presnova**

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

INFLUENCE OF DIFFERENT SPIRULINA CULTURES TO THE CONTENT OF LACTATE, MALATE AND PYRUVATE IN ORGANS OF RATS AT HEMOLYTIC ANEMIA

Summary

The content of lactate, malate and pyruvate, lactate/pyruvate, malate/pyruvate and NAD/NADH, NADP/NADPH ratios in organs of rats at hemolytic anemia and with cultures of spirulina was determined. It has been revealed that the content of lactate, malate and pyruvate having been researched in rat organs changes to different degree and ways at the injection of phenylhydrazin, and the ratio of NAD/NADH as a rule decreases. Application of spirulina had positive influence upon the noted changes.

Keywords: hemolytic anemia, lactate, malate, pyruvate, spirulina.

УДК 577.152.344:577.15.072

К. А. Філіпцова, асп., **І. Л. Вовчук**, канд. біол. наук, докторант
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

ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ КАРБОКСИПЕПТИДАЗИ А З ТКАНИН МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ МЕТОДОМ ВИСОЛЕННЯ СУЛЬФАТОМ АМОНІЮ

Розроблено метод виділення та очищення карбоксипептидази А, який складається з поетапного осадження сульфатом амонію з наступним діалізом в присутності іонів Zn^{++} . Встановлено, що поетапне осадження сульфатом амонію сприяє більш ефективному фракціонуванню карбоксипептидази А, а іони Zn^{++} сприяють збереженню активності ферменту в процесі діалізу. Частково очищені препарати карбоксипептидази А отримано з немалігнізованої тканини, а також з тканин доброякісних та злоякісних новоутворень молочної залози.

Ключові слова: карбоксипептидаза А, виділення ферменту, молочна залоза.

Лізосомальна карбоксипептидаза А (КФ 3.4.2.1) в значній мірі забезпечує протеолітичний потенціал клітини [1] та приймає участь у клітинному метаболізмі звичайних та аномальних білків: гемоглобіну, імуноглобуліну, антигену гепатиту В, нейротоксину ІІІ; в протеолітичному процесингу брадикініну, інсуліну, агоністів опіоїдних гормонів; обмеженому протеолізі попередників ферментів, а також в анаболізмі дипептидів та глюкозону.

На сьогоднішній час даний фермент виділений з різних біологічних об'єктів. Так, за допомогою іонообмінної хроматографії була виділена і очищена карбоксипептидаза А з головного мозку щурів [2], підшлункової залози свині [3] і великої рогатої худоби [4]. Метод гель-фільтрації використовували для очищення карбоксипептидази А з епідермальних клітин дводенних щурів [5] та концентрованої сечі людини [6]. Методом афінної хроматографії, за допомогою якої можна одночасно виділяти і очищати вибраний адсорбований фермент, була отримана очищена карбоксипептидаза А з культури клітин мишей [7], водних екстрактів підшлункової залози ссавців [8], сечі [6] і легень людини [9]. Однак, у світовій літературі нами не виявлено досліджень, присвячених виділенню карбоксипептидази А з тканин молочної залози.

Мета роботи — розробити метод виділення і очищення карбоксипептидази А з немалігнізованої тканини молочної залози, а також з тканин доброякісних і злоякісних новоутворень цієї залози.

Матеріали і методи

Досліджували зразки немалігнізованої тканини та зразки новоутворень молочної залози, вилучених операційним шляхом у жінок, які не отримували медикаментозного доопераційного лікування. Патоморфологічні діагнози — фіброзно-кістозна хвороба, проліферуюча і помірно диференційована форма інфільтруючого протокового раку молочної залози — були верифіковані за міжнародною класифікацією ВОЗ із визначенням морфологічного стану і ступеня диференціації трансформованих клітин пухлинної тканини [10].

Зразки тканин гомогенізували в дистильованій воді (у співвідношенні 1 : 10) і центрифугували при 9000 g/хв за +4 оС протягом 45 хв. Для очищення екстракту від низькомолекулярних домішок використовували метод діалізу проти 20-кратного об'єму дистильованої води в присутності 2 мМ Zn⁺⁺ та без його додавання [11]. Розчини білків, отримані після діалізу, піддавали поетапному фракціонуванню сульфатом амонію [11]. Для очищення від надлишку (NH₄)₂SO₄, що заважав визначенню білка по методу Lowry [12], фракції, отримані за 20%, 40%, 60% і 80% насичення сульфатом амонію, піддавали повторному діалізу за вище зазначених умов. У фракціях визначали активність карбоксипептидази А по гідролізу синтетичного субстрату карбобензоксифенілаланіну — 2 мМ [13]. Оптичну щільність визначали при довжині хвилі 570 нм, відносну активність ферментів виражали в ммоль фенілаланіну на мг тканини за 30 хв інкубації при 37 оС, питому активність — в мкмоль фенілаланіну на мг білка.

Результати та їх обговорення

Етапи виділення та очищення карбоксипептидази А з немалігнізованої тканини молочної залози, тканин доброякісного і злоякісного новоутворень молочної залози представлені в табл. 1, 2, 3. За результатами обох варіантів діалізу встановлено, що від 7 до 14% загального вмісту білка представлено низькомолекулярними компонентами. Умови звичайного діалізу (без розчину Zn⁺⁺) практично не впливали на відносну та питому активність карбоксипептидази А немалігнізованої тканини (табл. 1) та приводили до зниження відносної (в 1,2 рази) і питомої (в 1,1 рази) активності ферменту з тканин доброякісного і злоякісного новоутворень молочної залози (табл. 2, 3). Діаліз за додавання 2 мМ розчину Zn⁺⁺, на відміну від звичайного діалізу, приводив до незначного збільшення питомої активності ферменту (в 1,1 рази) в усіх трьох досліджуваних зразках тканин молочної залози (табл. 1, 2, 3). Отримані результати свідчать про те, що атом Zn⁺⁺ в молекулі карбоксипептидази А, виділеної з тканин доброякісного і злоякісного новоутворень молочної залози, ймовірно, недостатньо міцно зв'язаний з апоферментом і втрачається під час діалізу, який провадили без додавання Zn⁺⁺,

що, за даними інших дослідників, може призвести до часткового протеолізу [14]. В протилежність цьому, можна очікувати, що використання іонів Zn^{++} в процесі діалізу приводить до стабілізації зв'язку атома Zn^{++} з апоферментом. В зв'язку з цим подальше поетапне фракціонування карбоксипептидази А сульфатом амонію проводили, використовуючи діалізат, отриманий за додавання іонів Zn^{++} .

За даними літератури, карбоксипептидаза А осаджується за 60–80% насичення [14]. Нами при поетапному висоленні білків сульфатом амонію було виявлено наявність не менш 4 фракцій карбоксипептидази А, які осаджувались при різних ступенях насичення.

Щодо показників діалізованого розчину білка, то за 20% насичення сульфатом амонію осаджується 11,3%, 7,8% і 8,3% загального білка та 19%, 22% і 19% ферментативної активності немалігнізованої тканини молочної залози, тканин доброякісного і злоякісного новоутворень молочної залози відповідно. Загальна активність карбоксипептидази А цієї фракції в досліджуваних зразках тканин зменшується від 4,6 раза до 5,3 раза, але питома активність та коефіцієнт очищення збільшуються приблизно в 8,0 разів в немалігнізованій тканині молочної залози та в 13,3 і 11,8 рази в тканинах з доброякісною і злоякісною патологією молочної залози (табл. 1, 2, 3). Отримані результати свідчать про втрату під час фракціонування факторів, які регулюють ферментативну активність, серед яких можуть бути ендогенні інгібітори карбоксипептидази А.

За 40% насичення сульфатом амонію, в порівнянні з іншими етапами висолення, в досліджуваних зразках тканин молочної залози осаджується від 82,2 до 90% загального білка та від 25 до 30% ферментативної активності (табл. 1, 2, 3). Однак, коефіцієнт очищення та питома активність незначно відрізняються (підвищуються в 1,1–1,3 рази) від показників діалізованого розчину.

Щодо показників діалізованого розчину білка, то за 60% насичення сульфатом амонію в досліджуваних зразках тканин молочної залози осаджується від 6 до 12% загального білка та від 23 до 51% ферментативної активності (табл. 1, 2, 3). Коефіцієнт очищення карбоксипептидази А з тканин доброякісного та злоякісного новоутворень молочної залози становив 9,2 та 8,3 рази відповідно, а з немалігнізованої тканини — 37,3 рази.

Максимальний вихід ферменту — 68, 102 і 98% — був отриманий за 80% насичення сульфатом амонію при найнижчому вмісті загального білка (до 4%) в усіх трьох досліджуваних зразках тканин молочної залози (табл. 1, 2, 3). Ступінь очищення та питома активність ферменту немалігнізованої тканини, тканин доброякісного і злоякісного новоутворень молочної залози на даному етапі становили 32,1, 40,8 і 34,8 разів відносно показників діалізованого розчину (табл. 1, 2, 3).

Таблиця 1
Активність карбоксипептидази А на різних етапах виділення і очищення ферменту з немалігнізованої тканини молочної залози

Етапи виділення	V, мл	Концентрація білка, г білка / г тканини	Активність карбоксипептидази А		Загальна активність (ВΛ·V)	К очищення	% виходу
			ммоль фено / мг тканини	мкмоль фено / мг білка			
Екстракт до діалізу	36,0	0,080 ± 0,008	0,00353 ± 0,0004	0,044 ± 0,004	0,127 ± 0,013	1	100
Екстракт після діалізу без 2 мМ Zn ⁺⁺	36,0	0,074 ± 0,007	0,00333 ± 0,0003	0,045 ± 0,005	0,120 ± 0,012	1,02	95
Екстракт після діалізу з 2 мМ Zn ⁺⁺	36,0	0,074 ± 0,007	0,00350 ± 0,0004	0,047 ± 0,005	0,126 ± 0,013	1,07 (1)	99 (100)
20% насичення	7,0	0,009 ± 0,001	0,00340 ± 0,0003	0,378 ± 0,038	0,024 ± 0,002	8,04	19
40% насичення	9,0	0,072 ± 0,001	0,00352 ± 0,0004	0,049 ± 0,005	0,032 ± 0,003	1,04	25
60% насичення	7,3	0,005 ± 0,001	0,00877 ± 0,0009	1,754 ± 0,175	0,064 ± 0,006	37,32	51
80% насичення	19,0	0,003 ± 0,0003	0,00452 ± 0,0005	1,507 ± 0,151	0,086 ± 0,009	32,06	68

Активність карбоксипептидази А на різних етапах виділення і очищення ферменту з тканини проліферуючої форми фібрино-кістозної хвороби молочної залози

Етапи виділення	V, мл	Концентрація білка, г білка / г тканини	Активність карбоксипептидази А		Загальна активність (BA•V)	К очищення	% виходу
			ммоль фено / мг тканини	ммоль фено / мг білка			
Екстракт до діалізу	39,0	0,090 ± 0,009	0,01055 ± 0,0011	0,117 ± 0,012	0,412 ± 0,041	1	100
Екстракт після діалізу без 2 мМ Zn ⁺⁺	39,0	0,077 ± 0,008	0,00873 ± 0,0009	0,113 ± 0,011	0,341 ± 0,034	0,97	83
Екстракт після діалізу з 2 мМ Zn ⁺⁺	39,0	0,077 ± 0,008	0,00960 ± 0,0010	0,125 ± 0,013	0,375 ± 0,038	1,07 (1)	91 (100)
20% насичення	7,0	0,007 ± 0,001	0,01160 ± 0,0012	1,657 ± 0,166	0,081 ± 0,008	13,26	22
40% насичення	10,5	0,074 ± 0,007	0,01085 ± 0,0011	0,147 ± 0,015	0,114 ± 0,011	1,18	30
60% насичення	8,7	0,010 ± 0,001	0,01155 ± 0,0012	1,155 ± 0,116	0,101 ± 0,010	9,24	27
80% насичення	25,0	0,003 ± 0,0003	0,01530 ± 0,0015	5,100 ± 0,510	0,383 ± 0,038	40,80	102

Таблиця 3

Активність карбоксипептидази А на різних етапах виділення і очищення ферменту з тканини помірnodиференційованої форми інфільтруючого протокового раку молочної залози

Етапи виділення	V	Концентрація білка, г білка / г тканини	Активність карбоксипептидази А		Загальна активність (BA•V)	К очищення	% виходу
			ммоль фено / мг тканини	мкмоль фено / мг білка			
Екстракт до діалізу	39,0	0,084 ± 0,008	0,01085 ± 0,0011	0,129 ± 0,013	0,423 ± 0,042	1	100
Екстракт після діалізу без 2 мМ Zn ⁺⁺	39,0	0,077 ± 0,008	0,00879 ± 0,0009	0,114 ± 0,011	0,343 ± 0,034	0,88	81
Екстракт після діалізу з 2 мМ Zn ⁺⁺	39,0	0,077 ± 0,008	0,01060 ± 0,0011	0,138 ± 0,014	0,414 ± 0,041	1,07 (1)	98 (100)
20% насичення	7,1	0,007 ± 0,001	0,01100 ± 0,0011	1,571 ± 0,157	0,078 ± 0,008	11,84	19
40% насичення	9,2	0,071 ± 0,007	0,01225 ± 0,0012	0,173 ± 0,017	0,113 ± 0,011	1,25	27
60% насичення	8,4	0,010 ± 0,001	0,01150 ± 0,0012	1,150 ± 0,115	0,097 ± 0,010	8,33	23
80% насичення	28,0	0,003 ± 0,0003	0,01440 ± 0,0014	4,800 ± 0,480	0,403 ± 0,040	34,78	98

Взагалі, в порівнянні з вихідним діалізованим розчином білка за поступового осадження сульфатом амонію питома активність карбоксипептидази А немалігнізованої тканини молочної залози становила 163%, а з тканин доброякісного і злоякісного новоутворень молочної залози — 181 і 167% відповідно (табл. 1, 2, 3).

Зростання активності ферменту під час поетапного фракціонування можна пояснити або активацією прокарбоксипептидази А під впливом трипсиноподібних протеїназ, або наявністю ендогенного інгібітора карбоксипептидази А, але це припущення потребує подальших досліджень.

Таким чином, в протилежність даним літератури [14], в результаті поетапного фракціонування ми отримали частково очищений препарат карбоксипептидази А з високим процентом виходу за 80% насичення. Встановлено, що фермент з немалігнізованої тканини молочної залози в однаковій мірі осаджується як за 60%, так і за 80% насичення, що співпадає з даними літератури [14]. Таким чином, фракції карбоксипептидази А, отримані за 80% насичення сульфатом амонію, доцільно використовувати для подальшого порівняльного дослідження фізико-хімічних та біохімічних властивостей карбоксипептидази А.

Висновки

1. Використання методу поетапного висолення приводить до ефективного фракціонування карбоксипептидази А за її солерозчинністю.
2. Наявність іонів Zn^{++} в діалізаті сприяє збереженню карбоксипептидазної активності під час діалізу.
3. За 80% насичення сульфатом амонію з немалігнізованої тканини, доброякісного та злоякісного новоутворень молочної залози отримані частково очищені препарати карбоксипептидази А з коефіцієнтом очищення від 32,1 до 40,8 раза і активністю ферменту від 68 до 102%, у порівнянні з вихідними екстрактами тканин.

Література

1. Peterson L. M., Holmquist B. Human serum procarboxypeptidase A // *Biochemistry*. — 1983. — Vol. 22. — N 13. — P. 3077–3082.
2. Marks N., Sachs L., Stern F. Conversion of Met-enkephalin-Arg 6-Phe 7 by a purified brain carboxypeptidase (cathepsin A) // *Peptides*. — 1981. — Vol. 2, N 2. — P. 159–164.
3. Koide A., Yoshizawa M., Kurachi K. Crystallization and properties of carboxypeptidase A gamma from porcine pancreas // *Biochim. Biophys. Acta*. — 1981. — Vol. 659, N 2. — P. 390–400.
4. *Неорганическая биохимия* / Под ред. Г. Эйхгорна. — Том 1. — М.: Мир, 1978. — С. 504–560.
5. Purification and characterization of carboxypeptidase from terminally differentiated rat epidermal cell / M. Kikuchi, K. Fukuyama, K. Hirayama, W. Epstein // *Biochim. Biophys. Acta*. — 1989. — Vol. 991, N 1. — P. 19–24.

6. Skidgel R. A., Davis R. M., Erdos E. G. Purification of a human urinary carboxypeptidase distinct from carboxypeptidases A, B or N // *Anal. Biochem.* — 1984. — Vol. 140, N 2. — P. 520–531.
7. *Carboxypeptidase A* in mouse mast cells. Identification, characterization and use as a differentiation marker / W. E. Serafin, E. T. Dayton, P. M. Gravallesse, K. F. Austen, R. L. Stevens // *J. Immunol.* — 1987. — Vol. 139, N 11. — P. 3771–3776.
8. *Single-step* isolation and resolution of pancreatic carboxypeptidase A and B / T. J. Bazzone, M. Sokolovsky, L. B. Cueni, B. L. Vallee // *Biochem.* — 1979. — Vol. 18, N 20. — P. 4362–4366.
9. *Human* mast cell carboxypeptidase. Purification and characterization / S. M. Goldstein, C. E. Kaempfer, J. T. Kealey, B. U. Wintroub // *J. Clin. Invest.* — 1989. — Vol. 83, N 5. — P. 1630–1636.
10. *Всемирная* Организация Здравоохранения // Материали ежегодных отчетов. — С.Пб. — 1981. — 286 с.
11. *Практическая* химия Белка. — М.: Мир, 1989. — С. 39–43.
12. *Protein* measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. I. Rosenbrough, A. Z. Fan, R. J. Randol // *J. Biol. Chem.* — 1951. — Vol. 193. — P. 265–275.
13. *Bradshaw* R. S., et all. // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* — 1969. — Vol. 63. — P. 1389–1394.
14. *Пептидазы* / М. В. Колозейская, А. С. Пилявская. — К.: Наук. думка, 1982. — С. 176.

Е. А. Филиппова, И. Л. Вовчук

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

ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА КАРБОКСИПЕПТИДАЗЫ А ИЗ ТКАНЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ МЕТОДОМ ВЫСАЛИВАНИЯ СУЛЬФАТОМ АМОНИЯ

Резюме

Разработан метод выделения и очистки карбоксипептидазы А, который состоит из поэтапного осаждения сульфатом аммония с последующим диализом в присутствии ионов Zn^{++} . Установлено, что поэтапное осаждение сульфатом аммония способствует эффективному фракционированию карбоксипептидазы А, а ионы Zn^{++} способствуют сохранению активности фермента в процессе диализа. Частично очищенные препараты карбоксипептидазы А получено из немалигнизированной ткани, а также из тканей доброкачественных и злокачественных новообразований молочной железы.

Ключевые слова: карбоксипептидаза А, выделение фермента, молочная железа.

E. A. Filipcova, I. L. Vovchuk

Odessa National I. I. Mechnikov University,

Department of Biochemistry,

Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine. Tel: (0482) 68-78-75,

e-mail: irvov@mail.ru

**EXTRACTION AND PURIFICATION OF MAMMALIAN GLAND
TUMOR CARBOXYPEPTIDASE A FROM THE ГЫШТИИ THE METHOD
OF AMMONIUM SULFATE SEDIMENTATION**

Summary

The method of extraction and purification of carboxypeptidase A has been created. This method includes gradual sedimentation with the help of ammonium sulfate and further dialysis at the presence of Zn^{++} . It has been established that gradual sedimentation with ammonium sulfate promotes effective fractionating of carboxypeptidase A, while Zn^{++} ions promote preserving of activity of the enzyme at the process of dialysis. Partially purified preparations of carboxypeptidase A has been purified from non-malignized tissue, tissues of benignant and malignant tumors of the mammal gland.

Keywords: carboxypeptidase A, extraction of enzyme, mammalian gland.

**БОТАНІКА,
ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН**



УДК 581.9(477.74)

Т. В. Васильєва, канд. біол. наук, доц.,
С. Г. Коваленко, канд. біол. наук, доц.,
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
біологічний факультет,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

АНАЛІЗ ТАКСОНОМІЧНОЇ СТРУКТУРИ ФЛОРИ ПІВДЕННОЇ БЕССАРАБІЇ ТА СУМІЖНИХ ТЕРИТОРІЙ

Розглядаються таксономічні спектри провідних родин флори України, Молдови, Болгарії, Придністров'я, Північної Буковини у порівнянні із спектром флори Південної Бессарабії. Охарактеризовано тип флори, визначено коефіцієнти подібності родів і видів та видова насиченість родин. На основі визначення у флорах частки трьох та десяти провідних родин порівнюється ступінь антропогенного тиску.

Ключові слова: флора, таксономічний спектр, провідні родини, видова насиченість, коефіцієнт подібності.

Таксономічний аналіз є одним із методів, за допомогою яких вчені характеризують особливості тієї чи іншої флори, її належність певним флористичним царствам, основні риси структури тощо. І хоч дослідники не дійшли однозначного висновку щодо оптимального обсягу територій, необхідних для проведення аналізу та можливості порівняння флор різних за розміром територій, з сучасної точки зору більший сенс має порівнювання різних за розміром флор, що включають в себе одна одну, ніж однакових, але віддалених просторово [1].

Матеріали і методи

Метою наших досліджень було проведення систематичного аналізу флори Південної Бессарабії та суміжних територій. Південна Бессарабія розташована на перехресті давніх караванних шляхів із Заходу на Схід. На суші вона межує з заходу з Придністров'ям та Молдовою, на півночі — з Буковиною, а найближчими країнами зі Сходу по морському узбережжю є Румунія та Болгарія.

За основу було взято конспект флори, складений авторами на основі власних зборів, та опрацювання гербарних матеріалів і даних різних дослідників [2]. Порівняння проводили з флорою земної кулі [3], з флорою Голарктики [1], флорою України [4], Північної Буковини [5], а також з флорами суміжних країн: Болгарії [6], Молдови [7] та Придністров'я [8]. Були виділені провідні родини та проведено їх порівняльний аналіз за допомогою коефіцієнту Жакара [9].

Одержані результати та їх обговорення

Флора Південної Бессарабії, за нашими даними [2], представлена 1826 видами вищих спорових і насінних рослин з 4997 видів, які входять до складу флори України. У флорі Болгарії нараховується 3800 видів [6], Молдови — 2122 [7], Придністров'я — 1282 [8], Північної Буковини — 1568 видів [5]. До провідних родин ми віднесли найбільші за кількістю видів родини і розташували їх у низхідному порядку. Спектри провідних родин флори вказаних регіонів у порівнянні зі спектрами флори світу і Голарктики наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Спектр провідних родин різних флор

Назва родини		Місце родини у флорі									
латиною	українською	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
<i>Asteraceae</i>	<i>Аїстрові</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
<i>Poaceae</i>	<i>Тонконогові</i>	2	3	2	3	3	2	3	2	2	
<i>Fabaceae</i>	<i>Бобові</i>	3	4	3	2	4	3	2	3	4	
<i>Brassicaceae</i>	<i>Капустяні</i>	4	15	9	5	2	6	5	4	6	
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Гвоздичні</i>	5	33	18	6	9	5	7	8	5	
<i>Lamiaceae</i>	<i>Глухокропивові</i>	6	12	6	8	5	9	6	5	7	
<i>Apiaceae</i>	<i>Селерові</i>	7	19	10	10	6	8	8	7	11	
<i>Cyperaceae</i>	<i>Осокові</i>	8	7	4	11	-	11	11	10	10	
<i>Rosaceae</i>	<i>Розові</i>	9	13	8	4	-	4	4	6	3	
<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Лободові</i>	10	37	19	-	7	-	13	13	18	
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Ранникові</i>	11	8	5	7	8	7	9	9	9	
<i>Boraginaceae</i>	<i>Шорстколисті</i>	12	31	16	-	10	-	12	12	12	
<i>Ranunculaceae</i>	<i>Жовтецеві</i>	13	32	17	9	-	10	10	11	14	
<i>Polygonaceae</i>	<i>Гречкові</i>	14	51	25	-	-	-	14	14	14	
<i>Euphorbiaceae</i>	<i>Молочайні</i>	15	5	12	-	-	-	+	15	16	

Примітка. Флори: 1 — Південної Бессарабії [2], 2 — світу [3], 3 — Голарктики [1], 4 — України [4], 5 — синантропна флора України [11], 6 — Болгарії [6], 7 — Молдови [7], 8 — Придністров'я [8]; 9 — Північної Буковини; - — знаходиться нижче дванадцятого місця; + — знаходиться нижче п'ятнадцятого місця

За О. І. Толмачовим [10] та В. В. Протопоповою [11], для детальнішого аналізу звичайно виділяють 10 провідних родин. Однак, із флори Південної Бессарабії аналізували 15 провідних родин саме через те, що у суміжних регіонах, з флорою яких проведено порівняння, деякі з родин, що серед флори Бессарабії розташовуються нижче десятого місця, входять у першу десятку провідних родин.

Зрозуміло, що флора світу містить багато видів, притаманних флористично збагаченим тропічним областям земної кулі, але звертає на себе увагу те, що у всіх флорах перше місце займає родина *Asteraceae*. За винятком приполярних областей земної кулі ця

родина є першою і у природних, і у синантропних, і у загальних флорах різних регіонів світу. На другому-третьому місцях розташована родина *Poaceae*. У флорі світу їй передує переважно тропічна родина *Orchidaceae*. У флорах Південної Бессарабії, Північної Буковини, Болгарії та Придністров'я положення родини *Poaceae* більш високе, хоч найбільша кількість видів (331) нараховується у флорі України, а найменша (108) — у флорі Придністров'я. На території Південної Бессарабії і Молдови кількість видів, які належать до цієї родини, майже однакова: 156 та 158 відповідно. Високе положення цієї родини у флорі Південної Бессарабії можна пояснити наявністю степів, де панують представники родини *Poaceae*. Друге-четверте місця займає родина *Fabaceae*. Ця середземноморська родина широко представлена у флорі світу і Голарктики. Вона складає досить велику частку у всіх проаналізованих флорах. Висока позиція родини Бобових характеризує ці флори як такі, що тяжіють до "середземноморського типу", як і флора Криму [12] та Кавказу [13]. Найбільша кількість видів (336) визначена у флорі України, найменша (78) — у флорі Північної Буковини, тобто з півдня на північ кількість видів цієї родини у флорах зменшується.

Звертає на себе увагу досить високе положення родини *Cyperaceae* у світовій та регіональній флорі, в той час коли у флорі інших досліджуваних об'єктів родина замикає першу десятку або навіть виходить за її межі. Найбільшою кількістю видів (141) цієї родини відзначається флора України, найменшою (37) — флора Придністров'я.

Щодо родини *Rosaceae*, то її положення у флорі України, Молдови, Болгарії і особливо Північної Буковини високе: вона відкриває другу трійку провідних родин, у флорі Придністров'я посідає шосте місце, а у сільськогосподарсько розвиненій Південній Бессарабії і в Голарктиці ця родина знаходиться у третій трійці. У Європі родина *Rosaceae* тяжіє до Центральної частини континенту, що пояснює її досить низьке положення на півдні і більш високе положення при просуванні спостережень на північ. Найбільшою кількістю видів *Rosaceae* (290) відзначається флора України, найменшою (64) — флора Південної Бессарабії.

Взагалі всі досліджувані флори можна охарактеризувати як давньосередземноморські з виявом домінуючої ролі тієї чи іншої родини, що відображає особливості певної флори. Для Південної Бессарабії це родини *Chenopodiaceae*, *Cyperaceae*, *Boraginaceae*, *Polygonaceae*, для Молдови — *Rosaceae*, *Scrophulariaceae*, для України — *Ranunculaceae*, *Rosaceae*, для Болгарії — *Rosaceae*, *Scrophulariaceae*, *Ranunculaceae*, для Придністров'я і Буковини — *Rosaceae*, *Scrophulariaceae*.

Якщо розглянути видовий коефіцієнт провідних родин (табл. 2), то виявиться досить цікава закономірність.

Таблиця 2

Видовий коефіцієнт провідних родин різних флор

Назва родини	Флора					
	1	6	7	8	4	9
<i>Asteraceae</i>	3,0	4,3	3,4	2,6	5,7	2,9
<i>Poaceae</i>	3,0	3,1	2,3	2,1	3,3	2,5
<i>Fabaceae</i>	3,5	5,1	3,5	3,0	5,7	3,5
<i>Brassicaceae</i>	2,1	2,7	2,2	2,0	3,5	2,0
<i>Caryophyllaceae</i>	2,6	6,9	3,0	2,3	6,0	2,9
<i>Lamiaceae</i>	3,1	3,8	3,0	2,8	3,8	2,7
<i>Apiaceae</i>	1,8	2,1	1,6	1,5	2,4	1,6
<i>Cyperaceae</i>	6,1	4,3	3,0	6,1	8,3	6,9
<i>Rosaceae</i>	2,8	6,0	4,3	2,6	7,2	3,9
<i>Chenopodiaceae</i>	3,6	3,3	3,0	4,2	4,6	3,3
<i>Scrophulariaceae</i>	4,3	6,4	3,8	7,8	6,6	4,4
<i>Boraginaceae</i>	2,4	4,4	2,4	1,7	4,0	2,4
<i>Ranunculaceae</i>	2,6	5,0	2,9	2,4	6,0	3,0
<i>Polygonaceae</i>	7,0	4,9	14,0	6,0	9,4	7,5
<i>Euphorbiaceae</i>	9,3	7,6	5,8	11,5	12,6	11,5

Примітка: умовні позначення — як у таблиці 1.

Хоч видова насиченість майже всіх родин найбільша у флорі України, є декілька винятків. Так, для родини *Caryophyllaceae* вона вища у Болгарії, для родини *Scrophulariaceae* вона майже така ж, як у Болгарії, і вища у Придністров'ї, для родини *Lamiaceae* видова насиченість у флорах України і Болгарії співпадає.

Для Південної Бессарабії характерна більша насиченість видами родів, що належать до пустельних та напівпустельних родин, як, наприклад, *Chenopodiaceae*, або таких, що притаманні берегам річок та озер, як *Cyperaceae*, хоч найбільшою вона є для родини *Euphorbiaceae*. Видова насиченість останньої родини найвища для усіх флор, що порівнювалися. В той же час в усіх флорах видова насиченість коливається у межах одиниці в родинях *Poaceae*, *Apiaceae*, *Chenopodiaceae* та у більшому діапазоні у родини *Brassicaceae*, тоді як у *Euphorbiaceae* вона коливається від 5,8 до 12,6, у *Polygonaceae* від 4,9 до 14,0, у *Cyperaceae* від 3,0 до 8,3, у *Rosaceae* від 2,8 до 7,2, у *Ranunculaceae* від 2,4 до 6,0.

Видова насиченість може бути непрямим показником стабільності родин і інтенсивності занесення нових видів, тому що поява нових видів у складі родини найчастіше супроводжується збільшенням кількості родів і зменшенням їх видової насиченості.

Регіони, флору яких ми аналізували, знаходяться досить близько один від одного. Однак, у їх флорах є певні відмінності. Ми проаналізували подібність родів та видів трьох провідних родин цих флор з аналогічними даними щодо флори Південної Бессарабії (табл. 3).

З таблиці видно, що за коефіцієнтом Жакара найбільша подібність родового і видового складу трьох провідних родин характерна

для флори Молдови і частково Придністров'я і Північної Буковини. Таким чином, Південна Бессарабія є своєрідним куточком України, флора якого відрізняється від загальної флори країни. Найменша схожість відмічена з флорою Болгарії, хоч на родовому складі вона позначається значно більше, ніж на видовому.

Таблиця 3

Коефіцієнт подібності Жакара родів і видів різних флор з флорою Південної Бессарабії

Назва родини	Флора				
	України	Болгарії	Молдови	Придністров'я	Північної Буковини
	Роди				
<i>Asteraceae</i>	0,66	0,46	0,76	0,62	0,57
<i>Poaceae</i>	0,52	0,52	0,82	0,70	0,69
<i>Fabaceae</i>	0,61	0,59	0,72	0,67	0,57
	Види				
<i>Asteraceae</i>	0,35	0,26	0,53	0,46	0,34
<i>Poaceae</i>	0,47	0,28	0,56	0,52	0,43
<i>Fabaceae</i>	0,38	0,29	0,54	0,49	0,42

Як відомо, кількість видів, що входять до складу трьох або десяти провідних родин, може бути відображенням ступеня антропогенного пресу на певну флору. У табл. 4 показано частку, яку займають три і десять провідних родин у досліджуваних флорах.

Таблиця 4

Обсяг провідних родин у різних флорах (% від загальної кількості видів)

Флора	Три провідних родини		Десять провідних родин	
	Абсолютна кількість видів	%	Абсолютна кількість видів	%
Південної Бессарабії	524	28,6	1035	56,7
України	1359	27,0	2701	54,0
Болгарії	1059	27,8	2304	60,6
Молдови	560	26,3	1166	54,9
Придністров'я	337	26,3	715	55,8
Північної Буковини	419	26,7	906	57,8

З таблиці видно, що найбільший відсоток кількості видів у трьох провідних родин припадає на Південну Бессарабію, що свідчить про те, що антропогенний тиск тут найбільший, як і у Болгарії, де також розвинене сільськогосподарське виробництво з усіма його негативними наслідками: знищенням природних місцезростань, едафічними змінами, занесенням насіння бур'янів, вирощуванням та здичавінням різних сільськогосподарських культур тощо. Характерно, що і у Молдові, і у Придністров'ї частка трьох провідних родин однакова. Це може характеризувати і подібність відповідності флори рівню антропогенного навантаження. Найбільший обсяг десяти провідних родин ми виявили у флорі Болгарії,

а далі за цим показником у низхідному порядку йдуть Північна Буковина, Південна Бессарабія, Придністров'я, Молдова. Україна. Виходить, що флори трьох перших територій знаходяться під найбільшим антропогенним тиском.

Таким чином, таксономічний аналіз флори Південної Бессарабії у порівнянні з флорою України та суміжних територій дозволяє визначити не лише її належність до середземноморського типу флор, але й показати, що на флорі відбивається значний антропогенний тиск і певна нестабільність, яка проявляється у характері видової насиченості родин.

Висновки

1. Таксономічний аналіз флори Південної Бессарабії вказує на належність її до середземноморського типу.
2. Значна кількість видів, що припадає на три та десять провідних родин свідчить про значний антропогенний тиск, який щодо досліджуваних флор найбільший у Південній Бессарабії та Болгарії.
3. Видова насиченість родин флори Південної Бессарабії і флор суміжних територій також свідчить про значний антропогенний тиск.
4. Найбільшою видовою подібністю з флорою Південної Бессарабії характеризуються флори Молдови та Придністров'я.

Література

1. Хохряков А. П. Таксономические спектры и их роль в сравнительной флористике // Ботан. журн. — 2000. — 85, № 5. — С. 1–11
2. Васильєва Т. В., Коваленко С. Г. Конспект флори Південної Бессарабії. — Одеса: ВидавІнформ, 2003. — 250 с.
3. Тахтаджян А. Л. Система магнолиофитов. — Л.: Наука, 1988. — 320 с.
4. *Определитель* высших растений Украины. — К.: Фитосоциоцентр, 1999. — 548 с.
5. *Конспект* флори Північної Буковини (Судинні рослини) / Б. К. Термена, В. І. Стефанік, Л. С. Серпокрилова, М. К. Якимчук, Н. В. Баканова, В. І. Вайнагії, М. О. Смоленська, І. І. Чорней. — Чернівці: Вид. газ. "Від Дністра до Карпат", 1992. — 227 с.
6. *Определитель* на растения в България / Д. Делипавлов, И. Чешмеджиев, М. Попова, Д. Терзийски, И. Ковачев. — Пловдив: Акад. изд. на Аграрния ун-т, 2003. — 592 с.
7. *Гейдеман Т. С.* Определитель высших растений Молдавской ССР. — Кишинев: Штиинца, 1975. — 575 с.
8. *Жилкина И. Н.* Растения Приднестровской Молдавской республики. — Гатчина: Изд. ПИЯФ РАН, 2002. — 92 с.
9. *Шмидт В. М.* Математические методы в ботанике. — Л.: Изд. ЛГУ, 1984. — 288 с.
10. *Толмачев А. И.* Введение в географию растений. — Л.: Изд. Лен. ун-та, 1974. — 344 с.
11. *Протопопова В. В.* Синантропная флора Украины и пути ее развития. — К.: Наук. думка, 1991. — 204 с.
12. *Дидух Я. П.* Растительный покров горного Крыма. — К.: Наук. думка, 1992. — 254 с.
13. *Мальшев Л. И.* Флористические спектры Советского Союза // История флоры и растительности Евразии. — Л.: Наука, 1972. — С. 17–40.

Т. В. Васильева, С. Г. Коваленко

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

АНАЛИЗ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ФЛОРЫ ЮЖНОЙ БЕССАРАБИИ И СОПРЕДЕЛЬНЫХ ТЕРРИТОРИЙ

Резюме

Рассматриваются таксономические спектры ведущих семейств флоры Украины, Молдовы, Болгарии, Приднестровья, Северной Буковины по сравнению со спектром флоры Южной Бессарабии. Охарактеризован тип флоры, определены коэффициенты сходства родов и видов, видовая насыщенность семейств. На основании определения во флорах доли трех и десяти ведущих семейств сравнивается степень антропогенного воздействия.

Ключевые слова: флора, таксономический спектр, ведущие семейства, видовая насыщенность, коэффициент сходства.

T. V. Vasylyeva, S. G. Kovalenko

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

FLORA TAXONOMY ANALYSIS OF SOUTH BESSARABIA AND ADJOINING TERRITORIES

Summary

It is discussed the leading families flora taxonomy spectrums of Ukraine, Moldova, Bulgaria, the Northern Bukovina and near the Dnister territory in comparison with the Southern Bessarabia spectrum. It is defined the flora type, the coefficient of genus and species similarity, families saturation of the species. It is compared the degree of anthropogenic influence by determination in the flora parts of three and ten leading families.

Keywords: flora, taxonomy spectrum, leading families, species saturation, coefficient of similarity.

УДК 582.29(252.6)(210:262.5-16)

Ю. С. Назарчук, асп.Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра ботаніки,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ОСОБЛИВОСТІ ЛІХЕНОФЛОРИ ЗАПЛАВНИХ ЛІСІВ ПІВНІЧНО-ЗАХІДНОГО ПРИЧОРНОМОР'Я

Досліджено ліхенофлору заплавних лісів північно-західного Причорномор'я. Ідентифіковано 49 видів лишайників, які належать до 11 родин та 27 родів. Проведено таксономічний та формаційний аналізи. Виявлено риси подібності між ліхенофлорою заплавних лісів та ліхенофлорами лісостепової зони України.

Ключові слова: заплавний ліс, лишайники.

Лишайники є одним із факторів утворення та функціонування природних екосистем. Внаслідок антропогенного навантаження на природні екосистеми спостерігається їх поступова трансформація та деградація. Проведення інвентаризації флори лишайників та виявлення її характерних рис є невід'ємною складовою частиною досліджень флори будь-якої території.

Заплавні ліси північно-західного Причорномор'я не займають великих площ, але є характерним елементом заплавно-літорального ландшафту. Основні масиви заплавних лісів території зараз розташовуються на природоохоронних територіях різного рангу. Як зазначає С. Я. Кондратюк зі співавторами [1], інвентаризація видового складу лишайників більшості заповідних територій далека від завершення, а на деяких ще й не починалася. Ми [2, 3] також відзначаємо недостатність вивчення ліхенофлори території північно-західного Причорномор'я в цілому та, зокрема, ліхенофлори заплавних лісів, інформація про яку є лише з території Дунайського біосферного заповідника [4].

Мета роботи полягала у виявленні особливостей ліхенофлори заплавних лісів степової зони північно-західного Причорномор'я. До завдань входило: визначення видового складу ліхенофлори, проведення таксономічного та формаційного аналізу.

Матеріали і методи

Об'єктом дослідження є флора лишайників заплавних лісів Північно-західного Причорномор'я. Дослідження провадили на території регіонального ландшафтного парку "Ізмаїльські острови" та у межиріччі р. Дністер — р. Турунчук, територію якого частково займає проєктований національний природний парк "Дністровські плавні" (рис. 1) (далі ця територія умовно названа національним природним парком "Дністровські плавні").

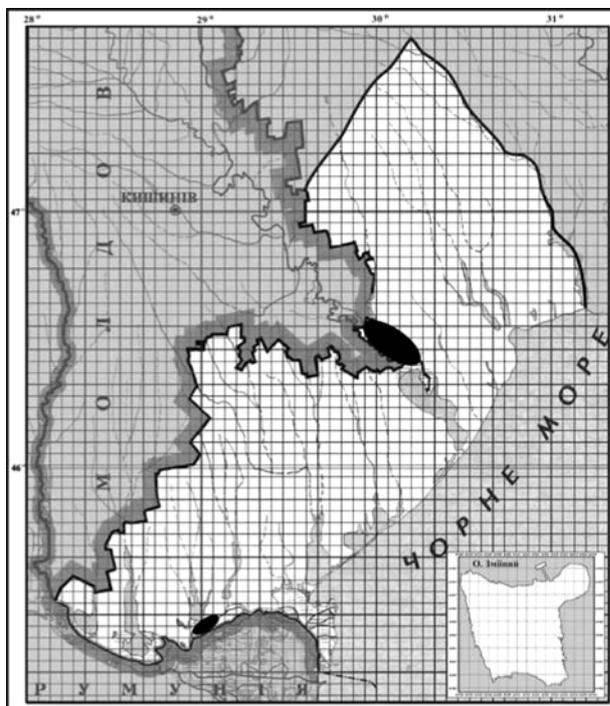


Рис. 1. Мапа степової зони північно-західного Причорномор'я

Примітка: ● — досліджувані території.

В ході експедицій зразки відбирали переважно з кори дерев, оголеної та мертвої деревини, а також з ґрунту та рослинних решток. Враховували також специфічні екологічні умови, такі як затіненість та вологість.

Визначення видів здійснювали за допомогою ряду визначників [5–9] за загальноприйнятими методиками [6, 9]. Список лишайників складено за "The second checklist of lichen forming, lichenicolous and allied fungi of Ukraine" [10]. Зразки видів зберігаються у ліхенологічному гербарії кафедри ботаніки Одеського національного університету ім. І. І. Мечникова (MSUD).

Результати та їх обговорення

Основні масиви заплавних лісів на досліджуваній території зосереджені у гирлах Дністра та Дунаю. Регіональний ландшафтний парк "Ізмаїльські острови", дельта Дунаю та межиріччя р. Дністер — р. Турунчук — це ділянки північно-західного Причорномор'я, де збереглася первинна природна рослинність, зокрема заплавні ліси. Їх дослідження є актуальними, тому що заплавні ліси являють собою незональний тип рослинності та переважно є первинними лісами південного регіону України.

Обширні масиви плавнів у гирлах Дунаю та Дністра характеризуються складним сполученням очеретяно-осокових боліт, луків, що тривало затоплюються, та заплавних лісів. Ліс росте тут в екстремальних екологічних умовах, не відрізняється складністю структури та видовим багатством. Ядро плавневих лісів складають угруповання, утворені вербою білою (*Salix alba* L.), тополею чорною (*Populus nigra* L.) та білою (*P. alba* L.) [11]. На прируслових грядах вузькими полосами ростуть переважно вербові ліси, що створюють у заплавах Дунаю та Дністра майже чисті вербові насадження. На найбільш сухих підвищених місцях зустрічаються ліски з дубу (*Quercus*), в'язу (*Ulmus*) та ясеню (*Fraxinus*), переважно штучно насаджені [12].

Регіональний ландшафтний парк "Ізмаїльські острови" розміщений на трьох прикордонних островах внутрішньої дельти Кілійського гирла Дунаю. Острови створені прирусловими валами, що поросли заплавним лісом, у поєднанні з лучною рослинністю. Основними лісовими породами виступають *P. alba*, *P. nigra*, *S. alba*, а також *Fraxinus excelsior* L., *Quercus robur* L., *Ulmus laevis* L. та ін. Унікальність островів полягає в тому, що більшість заплавного лісу збереглася в незайманому вигляді [13].

На основі камерального опрацювання власних зборів, а також за літературними даними по ліхенофлорі Дунайського біосферного заповідника [4] складено флористичний список лишайників, приурочених до заплавних лісів (табл. 1). Цей список складається із 49 видів, 27 родів, 11 родин та 4 порядків.

Таблиця 1

Лишайники на територіях, які займає заплавний ліс

№ п/п	Вид	РЛП "ІО"	НПП "ДП"*	ДБЗ (за [4])
1	<i>Acrocordia gemmata</i> (Ach.) A. Massal.	+		
2	<i>Amandinea punctata</i> (Hoffm.) Coppins et Scheid.		+	+
3	<i>Anaptychia ciliaris</i> (L.) A. Massal.			+
4	<i>Buellia alboatra</i> (Hoffm.) Th. Fr.			+
5	<i>Buellia schaeereri</i> De Not.	+		
6	<i>Caloplaca cerina</i> (Hedw.) Th. Fr.	+		
7	<i>Caloplaca cerinella</i> (Nyl.) Flagey		+	
8	<i>Caloplaca holocarpa</i> (Hoffm.) Wade			+
9	<i>Caloplaca lobulata</i> (Florke) Hellb.	+		+
10	<i>Caloplaca pyracea</i> (Ach.) Th. Fr.	+	+	
11	<i>Candelaria concolor</i> (Dicks.) Stein		+	
12	<i>Candelariella xanthostigma</i> (Ach.) Lettau			+
13	<i>Eopyrenula leucoplaca</i> (Wallr.) R.C. Harris		+	
14	<i>Evernia prunastri</i> (L.) Ach.	+	+	+
15	<i>Hypogymnia physodes</i> (L.) Ach.		+	
16	<i>Lecania alexandrae</i> Tomin	+		+
17	<i>Lecania koerberiana</i> Lahm. In Koerb.		+	
18	<i>Lecanora carpinea</i> (L.) Vain.	+	+	

Закінчення таблиці 1

№ п/п	Вид	РЛП "ІО"	НПП "ДП"*	ДБЗ (за [4])
19	<i>Lecanora hagenii</i> (Ach.) Ach.		+	+
20	<i>Lecanora leptyroides</i> (Nyl.) Degel.		+	
21	<i>Lecanora populicola</i> (DC.) Duby			+
22	<i>Lecanora pulicaris</i> (Pers.) Ach.	+	+	
23	<i>Lecanora saligna</i> (Schrad.) Zahlbr.	+		
24	<i>Lecanora sambuci</i> (Pers.) Nyl.			+
25	<i>Lecidella elaeochroma</i> (Ach.) Haszl.	+	+	+
26	<i>Lepraria incana</i> (L.) Ach.	+	+	
27	<i>Melanelia glabrata</i> (Lamy) Essl.		+	+
28	<i>Melanelia olivacea</i> (L.) Essl.		+	
29	<i>Mycromicrothelia melanospora</i> (Hepp.) D. Hawksw.			+
30	<i>Opegrapha rufescens</i> Pers.	+		
31	<i>Opegrapha varia</i> Pers.	+	+	+
32	<i>Parmelia sulcata</i> T. Taylor	+	+	+
33	<i>Parmelina quercina</i> (Willd.) Hale		+	
34	<i>Phaeophyscia orbicularis</i> (Neck.) Moberg	+	+	
35	<i>Phaeophyscia sciastra</i> (Ach.) Moberg	+		
36	<i>Physcia adscendens</i> (Fr.) Oliv.	+	+	+
37	<i>Physcia aipolia</i> (Humb.) Furner		+	
38	<i>Physcia caesia</i> (Hoffm.) Hampe	+	+	
39	<i>Physcia dubia</i> (Hoffm.) Lettau	+	+	+
40	<i>Physcia stellaris</i> (L.) Nyl.			+
41	<i>Physcia tenella</i> (Scop.) DC.		+	
42	<i>Physconia detersa</i> (Nyl.) Poelt		+	
43	<i>Physconia grisea</i> (Lam.) Zahlbr.		+	
44	<i>Pleurosticta acetabulum</i> (Neck.) Elix et Lumbsch		+	+
45	<i>Ramalina fraxinea</i> (L.) Ach.	+	+	+
46	<i>Rinodina pyrina</i> (Ach.) Arnold	+	+	+
47	<i>Scoliciosporum chlorococcum</i> (Stenh.) Vezda	+	+	
48	<i>Xanthoria parietina</i> (L.) Beltr.	+	+	+
49	<i>Xanthoria polycarpa</i> (Hoffm.) Rieber	+	+	+
	Всього видів	25	33	24

Примітки: РЛП "ІО" — регіональний ландшафтний парк "Ізмаїльські острови"; НПП "ДП" — національний природний парк "Дністровські плавні"* (у широкому розумінні); ДБЗ — Дунайський біосферний заповідник

Домінуюче положення порядку *Lecanorales* є характерною рисою ліхенофлор Голарктики. Так, основу ліхенофлори заплавних лісів складають лишайники саме цього порядку, в якому нараховується 36 видів (73% від загальної кількості видів). Набагато меншою кількістю видів представлений порядок *Teloschistales* — 7 (14% від загальної кількості видів), порядки *Dothideales*, *Arthoniales* та група *Ascomycota indet.* нараховують 3, 2 та 1 вид відповідно.

Провідними є родини *Physciaceae* (15 видів, або 31%) та *Lecanoraceae* (9 видів, або 18%), а також *Parmeliaceae* та *Teloschistaceae* (по 7 видів, або 14%). Такий розподіл провідних

родин свідчить про азональність характеру ліхенофлори заплавних лісів та наближає її до ліхенофлор лісостепової зони України [4].

Лишайники заплавних лісів належать до трьох груп географічних елементів (рис. 2) — мультизонального, неморального та бореального. Приблизно 55% складають лишайники неморального елементу; лишайники мультизонального та бореального елементів становлять 27 та 16% відповідно.

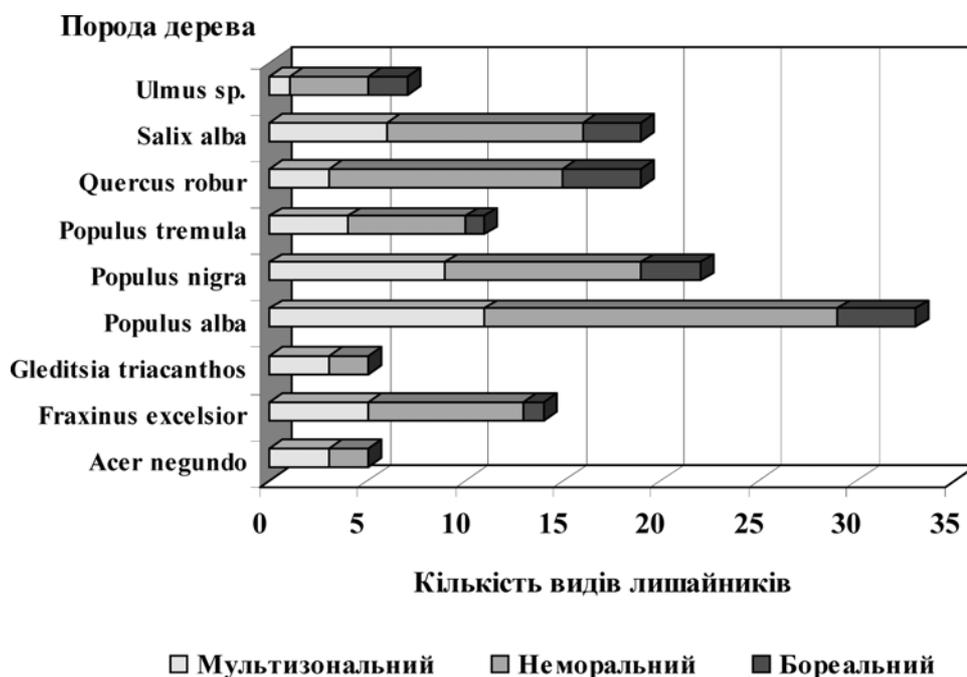


Рис. 2. Розподіл лишайників за географічними елементами в залежності від породи дерева

Майже на всіх основних деревних породах, а особливо на *Q. robur*, домінували лишайники неморального географічного елементу, що є закономірним для широколистяних порід дерев. Лишайники бореального елементу не мають чіткої приуроченості до певних порід дерев, але можна відмітити той факт, що їх кількість зростала на тих породах (*Q. robur* та *Ulmus sp.*), які росли у несприятливих умовах (наприклад, за тривалого перезволоження). Цікаво, що дерева, які постійно знаходяться у воді, характеризуються дуже бідною ліхенофлорою (2 види). Кількість видів лишайників значно зростає по мірі зменшення періоду затоплення. Так, на деревах, які у період повенів знаходяться у воді декілька тижнів, зростають 18 видів лишайників, тоді як на деревах, які майже водою не заливаються, — 41 вид.

Висновки

1. Ліхенофлора заплавних лісів північно-західного Причорномор'я складається із 49 видів лишайників, які належать до 27 родів, 11 родин та 4 порядків.
2. Домінування родин *Physciaceae* (31%), *Lecanoraceae* (18%) та переважання лишайників неморального елементу свідчить про незональність характеру ліхенофлори заплавних лісів та наближає її до ліхенофлор лісостепової зони України.

Автор щиро вдячний д-ру біол. наук, зав. відділом ліхенології та бріології Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України Сергію Яковичу Кондратюку за допомогу та консультації на всіх етапах роботи.

Дослідження підтримані проектом TACIS-EuropeAid/120944/C/SV/UA "Технічна допомога у плануванні менеджменту басейну нижнього Дністра".

Література

1. Кондратюк С. Я., Навроцька І. Л., Ходосовцев О. Є. Сучасний стан вивченості лишайників на природно-заповідних територіях рівнинної частини України // Укр. ботан. журн. — 1998. — Т. 55, № 4. — С. 436–444.
2. Назарчук Ю. С., Кондратюк С. Я. К истории изучения лишайников северо-западного Причерноморья // Материалы VIII Молодежной конференции ботаников в Санкт-Петербурге (17–21 мая 2004 г.). — СПб., СПГУТД, 2004. — С. 83.
3. Назарчук Ю. С. Які ж згадки про лишайники Степової зони перші? // Матеріали Міжнародної конференції молодих учених-ботаніків "Актуальні проблеми ботаніки, екології та біотехнології" (27–30 вересня 2006 р.). — К.: Фітосоціоцентр, 2006. — С. 25–26.
4. Ходосовцев О. Є. Лишайники причорноморських степів України. — К.: Фітосоціоцентр, 1999. — 236 с.
5. Макаревич М. Ф. Род *Lecanora* (Ach.) Th. Fr. // Определитель лишайников России. — 1971. — Т. 1. — С. 72–146.
6. Окснер А. М. Флора лишайників України. — К.: Наук. думка, 1956. — Т. 1. — 495 с.
7. Окснер А. М. Флора лишайників України. — К.: Наук. думка, 1993. — Т. 2, вип. 2. — 544 с.
8. Moberg R. Physciaceae // Nordic Lichen Flora. — 2002. — Vol. 2. — 115 p.
9. *The Lichen Flora of Great Britain and Ireland* / Purvis O. W., Coppins B. J., Hawksworth D. L. et al. — The British Lichen Society, 1992. — 710 p.
10. Kondratyuk S. Ya., Khodosovtsev A. Ye. et Zelenko S. D. The second checklist of lichen forming, lichenicolous and allied fungi of Ukraine. — Kiev.: Phytosociocentre, 1998.
11. Біорізноманітність Дунайського біосферного заповідника, збереження та управління. — К.: Наук. думка, 1999. — 702 с.
12. *Природа* Одесской области. Ресурсы, их рациональное использование и охрана. — К.; О.: Вища шк., 1979. — 144 с.
13. Янкіна Н. А. Господарське значення рослинності островів Малий Татару та Малий Далер // Мат. наук. конф. мол. вчених (Кривий Ріг), 13–16 травня, 2002. — Кривий Ріг, 2002. — С. 431–434.

Ю. С. Назарчук

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

**ОСОБЕННОСТИ ЛИХЕНОФЛОРЫ ПЛАВНЕВЫХ ЛЕСОВ
СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ПРИЧЕРНОМОРЬЯ**

Резюме

Исследована лихенофлора плавневых лесов северо-западного Причерноморья. Идентифицировано 49 видов лишайников, принадлежащих к 11 семействам и 27 родам. Проведен таксономический и формационный анализы. Выявлены черты подобия между лихенофлорой плавневых лесов и лихенофлорами лесостепной зоны Украины.

Ключевые слова: плавневый лес, лишайники.

Yu. S. Nazarchuk

Odessa National Mechnikov University, Department of Botany,
Dvoryanskaja St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

**FEATURES OF FLOOD-PLAIN FORESTS LICHENFLORA OF THE
NORTH-WESTERN PRYCHORNOMORYA PART**

Summary

The lichen flora of flood-plain forests of the north-western Prychornomorya was studied. 49 species of lichens belonging to 11 families and 27 genera were identified. Taxonomic and structural analyses were conducted. The lines of similarity between lichenflora of the flood-plain forests and lichenflora of the forest-steppe zone of the Ukraine have been exposed.

Keywords: flood-plain forest, lichens.

УДК 581.9(477-74)

В. В. Немерцалов¹, асп., **В. В. Петрушенко**², канд. біол. наук., ст. наук. співроб., **Т. В. Васильєва**¹, канд., біол. наук., доц., **О. В. Богусла-венко**¹, студ.

¹ Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
біологічний факультет,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

² Ботанічний сад ОНУ ім. І. І. Мечникова,
Французький бульвар, 48/50, Одеса, 65058, Україна

СТРУКТУРА ДЕНДРОФЛОРИ ПАРКУ ІМ. О. М. ГОРЬКОГО

Проведено інвентаризацію складу зелених насаджень парку ім. О. М. Горького у місті Одесі. Проаналізовано спектр життєвих форм, таксономічну і вікову структуру дендрофлори парку. Зроблено висновок про необхідність надання окремим об'єктам на території парку статусу пам'яток природи місцевого значення, а самому парку — статусу пам'ятки садово-паркового мистецтва місцевого значення.

Ключові слова: дендрофлора, місто Одеса, природоохоронний статус, парк ім. О. М. Горького.

У сучасних умовах проблема збереження біологічної різноманітності вимагає від користувачів природних ресурсів впровадження заходів по охороні і відновленню природних і культурних ландшафтів. Особливо це стосується регіонів, у яких первинний видовий склад рослинності через несприятливі кліматичні і едафічні фактори історично був збідненим і в теперішньому стані сформований переважно за участю екзотів. Зокрема, це стосується Одеського регіону, де несприятливі умови культивування дерев і чагарників значно підвищують цінність і собівартість зелених насаджень [1].

Дослідження природно-заповідного фонду Одеського регіону, що було проведено вченими Одеського національного університету ім. І. І. Мечникова, свідчить про те, що за останні часи "відбулися значні зміни в оточуючому середовищі і стані природних екосистем області" [2].

Особливістю створення штучних фітоценозів у даному регіоні є поєднання у паркових композиціях деревно-чагарникових рослин різного віку і географічного походження. Це призводить до формування ландшафтів, які не мають аналогів у природі і потребують поглибленого вивчення [3].

Метою даної роботи було дослідження особливостей структури дендрофлори паркових фітоценозів регіону та визначення їх природоохоронного потенціалу.

Об'єкт та методи дослідження

Об'єктом дослідження був сучасний стан деревно-чагарникових насаджень парку ім. О. М. Горького (м. Одеса). Парк було створено в 1950–1960 рр. у процесі забудови нових районів міста. Він має суттєве рекреаційне значення. За формою парк наближається до квадрату, його площа сягає 15 га.

Визначення структури дендрофлори паркового фітоценозу проводили протягом вегетаційного періоду 2006 року. Застосовували екскурсійно-маршрутний метод з нанесенням маршрутів на карту-схему парку. Камеральну обробку матеріалу і уточнення результатів попереднього визначення видів проводили за допомогою спеціальної довідкової літератури [1, 4–8].

Наявну життєву форму кожного об'єкту визначали за Н. Б. Гроздовою [4] і Т. В. Васильєвою-Немерцаловою [9]. Використовували такі градації життєвих форм: "дерево", "кущ", "ліана", "кущ або дерево" та "вимушений однорічник". Оцінку фітосанітарного стану насаджень проводили за прийнятою шкалою оцінки (добрий, задовільний і незадовільний) [10, 11]. За джерелами літератури [12] у дендрофлорі парку було виділено особливо цінні для зеленого будівництва таксони. Вікову структуру дендрофлори досліджували непрямим методом, з урахуванням видової належності і діаметра стовбура дерев [10]. Діаметр (D) стовбура розраховували за формулою $D=L/\pi$, де L — довжина окружності стовбура біля поверхні землі. За цими даними визначали приблизний вік рослин [10, 11].

Результати дослідження і їх обговорення

Проведений таксономічний аналіз дендрофлори парку показав, що на його території зустрічаються 77 видів з 58 родів, 29 родин, 25 порядків, двох класів. Таксономічна структура дендрофлори парку наведена у табл. 1.

Видно, що провідними за кількістю видів є такі родини дендрофлори парку: *Rosaceae* (19 видів), *Salicaceae* (7 видів), *Fabaceae* і *Ulmaceae* (по 5 видів), *Oleaceae* і *Pinaceae* (по 4 види). Найбільше відношення кількості форм до кількості видів властиво родинам *Cupressaceae* і *Fabaceae*. Результати таксономічного аналізу приводять до висновку про типовість видового складу парку для дендрофлори Одеси в цілому [13]. Нами було виявлено також 92 культивовані форми деревно-чагарникових рослин, що свідчить про високу декоративну цінність паркових насаджень.

Результати попередніх обстежень парку не збереглися, тому не було можливості проаналізувати динаміку структури дендрофлори паркового фітоценозу.

На території парку ім. О. М. Горького було виявлено 5020 екземплярів деревно-чагарникових рослин. Із них 4687 рослин (93% від загальної кількості) знаходяться у доброму стані, 224 (4,5%) — у задовільному стані і потребують впровадження заходів по їх

оздоровленню. 109 рослин (2,5%) знаходяться у незадовільному стані і не підлягають відновленню.

Таблиця 1

Таксономічна структура дендрофлори парку ім. О. М. Горького

№	Назва родини	Наявність таксонів		
		родів	видів	культивованих форм
1.	<i>Aceraceae</i>	1	3	4
2.	<i>Berberidaceae</i>	1	1	1
3.	<i>Betulaceae</i>	1	1	1
4.	<i>Bignoniaceae</i>	1	1	1
5.	<i>Buddlejaceae</i>	1	1	1
6.	<i>Buxaceae</i>	1	1	1
7.	<i>Caprifoliaceae</i>	3	3	3
8.	<i>Cornaceae</i>	1	1	1
9.	<i>Cupressaceae</i>	2	2	4
10.	<i>Elaeagnaceae</i>	1	1	1
11.	<i>Euphorbiaceae</i>	1	1	1
12.	<i>Fabaceae</i>	5	5	9
13.	<i>Fagaceae</i>	1	2	3
14.	<i>Hippocastanaceae</i>	1	1	1
15.	<i>Hydrangeaceae</i>	2	2	2
16.	<i>Juglandaceae</i>	1	1	1
17.	<i>Malvaceae</i>	1	1	2
18.	<i>Moraceae</i>	1	1	2
19.	<i>Oleaceae</i>	4	4	5
20.	<i>Pinaceae</i>	3	4	6
21.	<i>Platanaceae</i>	1	1	1
22.	<i>Tiliaceae</i>	1	3	3
23.	<i>Salicaceae</i>	2	7	7
24.	<i>Sapindaceae</i>	1	1	1
25.	<i>Simaroubaceae</i>	1	1	1
26.	<i>Solanaceae</i>	1	1	1
27.	<i>Rosaceae</i>	14	19	20
28.	<i>Ulmaceae</i>	2	5	6
29.	<i>Vitaceae</i>	2	2	2
Загалом		58	77	92

Серед визначених видів життєвою формою "дерево" представлений 41 вид, "кущ" — 21 вид, формою "дерево або кущ" — 10 видів, "ліана" — 4 види. Один вид (*Ricinus communis* L.) — "вимушений однорічник".

Аналіз цінності видів дендрофлори парку дозволив виділити 31 таксон рослин, що відносяться до категорії особливо цінних для садівництва і зеленого будівництва. Серед них: *Armeniaca vulgaris* (Lam.) Mill., *Berberis vulgaris* L., *Buxus sempervirens* L., *Catalpa bignonioides* Walt., *Cerasus avium* (L.) Moench, *C. vulgaris* Mill., *Crataegus crus-galli* L., *Cydonia oblonga* Mill., *Juglans regia* L., *Juniperus virginiana* L., *Malus domestica* Borkh, *Morus alba* L.,

M. alba L. 'Pendula', *Padus serotina* Borkh., *Picea pungens* Engelm., *Pinus pallasiana* Lamb., *Platanus acerifolia* Wil., *Platicladus orientalis* (L.) Franco, *Prunus divaricata* Led., *P. divaricata* var. *pissardii* Bail, *P. domestica* (L.) Mill., *Pseudotsuga menziesii* Mirb., *Pyrus communis* L., *Rosa rubrifolia* Vil. s. l., *Rubus caesius* L., *Sorbus aucuparia* L., *Stiphnolobium japonica* L., *S. japonica* L. 'Pendula', *Syringa vulgaris* L., *Tilia americana* L., *Vitis vinifera* L. Наявність у насадженнях парку таких видів значно збільшує балансову (відновлювану) вартість паркових композицій та їхню естетичну цінність [6].

Вікова структура дендрофлори паркового фітоценозу (рис. 1) формується за рахунок насадження нових рослин, самосіву окремих натуралізованих видів та знесення загиблих дерев і чагарників.

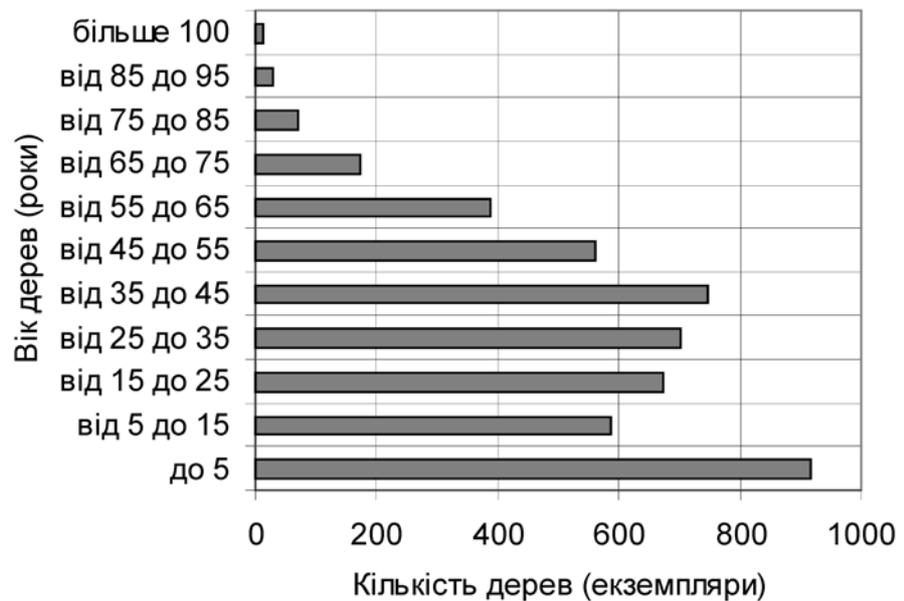


Рис. 1. Віковий спектр рослин парку ім. О. М. Горького

Як видно з рис. 1, у віковому спектрі рослин парку переважають молоді щойно висаджені дерева і самосів. Більш детальний аналіз вікової структури, результати якого ми не наводимо, свідчить про те, що кількість дерев, які були висаджені у роки з холодними зимами або посушливими літами (що зазвичай мають місце у регіоні кожні 12-13 років [9]), достовірно менша, ніж кількість рослин, висаджених на декілька років раніше чи пізніше. Це відповідає уявленням про збільшення стійкості деревно-чагарникових рослин з віком [1]. За результатами обстежень, найстарішими

деревами у парку є *Platanus acerifolia* Wil. (D=0,92 м) та *Quercus robur* L. (D=0,9 м) (табл. 2).

Таблиця 2

Раритетні рослини парку ім. О. М. Горького

Назва виду		Діаметр стовбура (м)	Вік (роки)
українською	латиною		
Софора японська	<i>Stiphnolobium japonica</i> L.	0,71	60
		0,72	60
		0,74	65
		0,76	70
		0,76	70
		0,77	70
Платан кленолистий	<i>Platanus acerifolia</i> Wil.	0,72	60
		0,74	60
		0,76	60
		0,77	60
		0,92	80
Робінія ложноакацієва	<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	0,70	~100
		0,72	~100
Дуб черешчатий	<i>Quercus robur</i> L.	0,84	~100
		0,90	>100
Тополя канадська	<i>Populus canadensis</i> Moench.	0,70	60
		0,70	60
		0,76	65
Тополя біла	<i>Populus alba</i> L.	0,71	60
		0,74	70
Тополя Болле	<i>Populus bolleana</i> Lauche	0,72	60
		0,81	75
Тополя італійська	<i>Populus pyramidalis</i> Roz.	0,70	60
		0,76	70
Тополя чорна	<i>Populus nigra</i> L.	0,76	70
Клен платанолистий	<i>Acer platanoides</i> L.	0,85	80

Ряд дерев у парку за таксаційними параметрами можна вже зараз, або у недалекому майбутньому віднести до об'єктів зі статусом пам'яток природи місцевого значення. Перелік цих раритетних рослин наведено у табл. 2. Слід відзначити, що деякі з наведених видів тополі (секція *Nigra*) розглядаються як представники поліморфного гібридного виду *Populus euroamericana* (Dode) Guinier [8]. Проте, у сучасній таксономії [5–7] переважають інші погляди.

З табл. 2 видно, що найбільшої уваги потребують представники виду софора японська (6 екземплярів) та представники п'яти видів роду тополя (10 екземплярів). На нашу думку, доцільним є використання вікових представників раритетних видів дерев як маточників для вегетативного розмноження стійкого посадкового матеріалу.

Декоративну цінність мають створені на території парку групі насаджень деревно-чагарникових рослин: алеї з *Platanus acerifolia* Wil., *Populus alba* L., *Populus bolleana* Lauche, *Tilia americana* L., *Morus alba* L. і її плакучої форми, березові діброви, композиції із шпилькових рослин, дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) та дуба каштанолистого (*Quercus castanaefolia* С. А. М.), унікальна композиція, у якій поєднані береза (*Betula pendula* L.), сосна кримська (*Pinus pallasiana* Lamb.) та плакуча форма шовковиці білої (*M. alba* L. 'Pendula').

Взагалі, цілісна ландшафтна і семантична композиція парку, для формування якої було витрачено значний час та матеріальні ресурси, а також унікальність структури дендрофлори паркового фітоценозу можуть стати основою для присвоєння парку ім. О. М. Горького статусу парку-пам'ятки садово-паркового мистецтва місцевого значення.

Висновки

1. На території парку ім. О. М. Горького було визначено 92 культивовані форми 77 видів рослин з 58 родів, 29 родин, 25 порядків, двох відділів.
2. Загальна кількість деревно-чагарникових рослин на території парку дорівнює 5020 екземплярів. За результатами дослідження фітосанітарного стану рослин парку встановлено, що переважна частина (93%) деревних рослин парку знаходиться у доброму стані. За віковою структурою переважає група рослин, молодших за 5 років.
3. На території парку знайдено 31 таксон особливо цінних для садівництва і зеленого будівництва деревно-чагарникових рослин. За своїми таксаційними параметрами і віком 26 екземплярів дерев можуть бути заповідані, з наданням їм статусу пам'ятки природи місцевого значення.
4. Парк ім. О. М. Горького за декоративними і таксаційними ознаками заслуговує надання йому природоохоронного статусу парку-пам'ятки садово-паркового мистецтва місцевого значення.

Література

1. Кохно Н. А., Курдюк А. М. Теоретические основы и опыт интродукции древесных растений в Украине. — К. : Наук. думка, 1994. — 186 с.

2. Стойловський В. П., Попова О. М. Результати інвентаризації природно-заповідного фонду Одеської області. II Заказники місцевого значення // Вісник ОНУ. — 2005. — Т. 10, вип. 5. Біологія. — С. 101–112.
3. Немерцалов В. В. До вивчення дендрофлори парків м. Одеси // Біорізноманіття: сучасний стан, проблеми та перспективи розвитку: Зб. матеріалів Всеукраїнської науково-практичної конференції. — Полтава, 2004. — С. 52–53.
4. Гроздова Н. Б., Некрасов В. И., Глоба-Михайленко Д. А. Деревья, кустарники и лианы. — М.: Лесная промышленность, 1986. — 349 с.
5. Дендрофлора України. Дикорослі й культивовані дерева і кущі. Покритонасінні. Частина I. Довідник / М. А. Кохно, Л. І. Пархоменко, А. У. Зарубенко та ін. — К.: Фітосоціоцентр, 2002. — 448 с.
6. Дендрофлора України. Дикорослі й культивовані дерева і кущі. Покритонасінні. Частина II. Довідник / М. А. Кохно, Н. М. Трофіменко, Л. І. Пархоменко та ін. — К.: Фітосоціоцентр, 2005. — 716 с.
7. Определитель высших растений Украины. — К.: Фитосоцицентр, 1999. — 548 с.
8. Щепотьев Ф. Л. Дендрология. — К.: Выща школа, 1990. — 287 с.
9. Васильева-Немерцалова Т. В. Синантропная флора припортовых городов Северо-Западного Причерноморья и пути её развития: Дисс... канд. биол. наук. — К., 1996. — 169 с.
10. Методические рекомендации для оценки восстановительной (балансовой) стоимости зелёных насаждений населённых пунктов Украины. — К.: НИИ УПЖКХ, 1996. — 24 с.
11. Постанова Кабінету міністрів України № 1789 від 28 грудня 2001 р. <http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi>
12. Декоративные растения открытого и закрытого грунта. — К.: Наук. думка, 1985. — 664 с.
13. Немерцалов В. В. Інтродукційний потенціал деяких родин дендрофлори міста Одеси // Вісник аграрної науки Південного регіону. — 2005. — Вип. 6. — О.: СМІЛ, 2005. — С. 209–214.

**В. В. Немерцалов¹, В. В. Петрушенко², Т. В. Васильева¹,
О. В. Богуславленко¹**

¹ Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
биологический факультет,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

² Ботанический сад ОНУ им. И. И. Мечникова,
Французский бульвар, 48/50, Одесса, 65058, Украина

СТРУКТУРА ДЕНДРОФЛОРЫ ПАРКА ИМ. А. М. ГОРЬКОГО

Резюме

Проведена інвентаризація складу зелених насаджень парку ім. А. М. Горького (г. Одеса). Проаналізовано спектр життєвих форм, таксономічна і вікова структура дендрофлори парку. Сделано висновки про необхідність присвоєння ряду об'єктів на території парку статусу пам'яток природи місцевого значення, а самому парку - статусу пам'ятника садово-паркового мистецтва місцевого значення.

Ключевые слова: дендрофлора, город Одесса, природоохранный статус, парк им. А. М. Горького.

V. V. Nemertsalov¹, **V. V. Petrushenko**², **T. V. Vasylyeva**¹,
A. V. Boguslavenko¹

¹ Odessa National I. I. Mechnikov University, Botany Department,
Dvoryanska Str., 2, Odessa, 65026, Ukraine

² Botanical Garden of Odessa National I. I. Mechnikov University,
Frantsuzky boul., 48/50, Odessa, 65058, Ukraine

THE STRUCTURE OF THE A. M. GORKY PARK DENDROFLORA

Summary

The Odessa A. M. Gorky park green plantation inventory has been completed. The life forms specter, taxonomic and ages structure of the park dendroflora were also analyzed. The authors consider that, some of the plant objects on the park territory could be received the environmental protection status "Memorial of nature of local importance", and the A. M. Gorky park whole could be received the status "Memorial of the landscape architecture of local importance".

Keywords: dendroflora, Odessa city, environmental protection status, the A. M. Gorky park.

УДК 582.4/.5:712.41:502.75(477.74)

О. М. Попова, канд. біол. наук, доц.

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

СУЧАСНИЙ СТАН ДЕНДРОФЛОРИ ГЕТЬМАНІВСЬКОГО ДЕНДРОПАРКУ

У 2005 р. у парку було зафіксовано 55 видів деревних рослин (44 дерева, 9 кущів та 2 ліани). Кількісно переважають *Acer platanoides*, *A. campestre*, *Fraxinus excelsior*, *Robinia pseudoacacia*, *Ulmus pumila*. Старі дерева *Aesculus hippocastanum*, *Abies cephalonica*, *Tilia caroliniana*, *Ulmus pumila*, *Corylus colurna*, *Quercus robur*, *Acer campestre* мають діаметр стовбура більше 80 см. Рослини 22 видів мають діаметр стовбура більше 50 см. Фітосанітарний стан більшості рослин парку незадовільний. Тому необхідно провести термінові відновні роботи.

Ключові слова: дендрофлора, Одеська область, природно-заповідний фонд.

Актуальність інвентаризації і моніторингу біорізноманітності територій, що особливо охороняються, зараз не викликає сумнівів. Це стосується і всіх дендроагроценозів — об'єктів, штучно створених людиною, зокрема парків-пам'яток садово-паркового мистецтва. В Одеській області наукова інвентаризація таких об'єктів не завершена, тому складання достовірних списків деревно-чагарникових рослин парків, що охороняються, але поки що не вивчені, — одне з першочергових завдань.

Гетьманівський дендропарк розташований на площі 2,4 га у селі Гетьманівка Савранського району, який знаходиться на південно-західній межі Савранського лісового масиву у однойменному адміністративному районі Одеської області. До природно-заповідного фонду області його включено у 1972 р. [1–3].

З точки зору фізико-географічного районування, ця територія відноситься до лісостепової зони. Згідно з геоботанічним районуванням [4], парк знаходиться в межах Південноподільського округу дубових лісів та лучних степів, який належить до Української лісостепової підпровінції, Східноєвропейської лісостепової провінції, Лісостепової підобласті, Європейської степової області.

Дендропарк було засновано у ХІХ ст. власником Гетьманівки полковником Зинов'євим. Безпосередньо роботами керував садівник Свентицький. Детально цей парк було описано Г. Й. Потапенком [5]. У роки Великої Вітчизняної війни багато дерев було знищено. Спостерігалися зміни і у мирні часи, але інформація про сучасний видовий склад рослин Гетьманівського дендропарку у літературі відсутня. Метою нашої роботи стало визначення сучасної цінності Гетьманівського дендропарку як об'єкту природно-заповідного фонду. У зв'язку з цим були поставлені такі завдання:

1. Вивчити сучасний видовий та кількісний склад дендрофлори парку.
2. Виявити найстаріші дерева.
3. Визначити фітосанітарний стан рослин.
4. Виявити зміни, що відбулися у дендрофлорі парку протягом майже 70 років.

Методика досліджень

Вивчення видового складу Гетьманівського дендропарку проводили маршрутним методом. Рослини визначали за відповідною літературою [6–11]. Орієнтовним показником віку дерева вважали діаметр його стовбура на висоті 1,3 м над поверхнею ґрунту. Фітосанітарний стан визначали за трибальною шкалою. Він вважався добрим, якщо листя і стовбур не мали пошкоджень, крона дерева була розвинута добре, сухих гілок мало, задовільним — якщо головний стовбур та крона нормально розвинуті, але спостерігається значна кількість сухих та зламаних гілок, незадовільним — при пошкодженому стовбурі, наявності порожнин у ньому, значній кількості сухих та зламаних гілок.

Самовідновлення визначали за наявністю молодих рослин різного віку.

При порівнянні наших матеріалів з даними Г. Й. Потапенка останні уточнювали згідно з сучасною номенклатурою [12].

Результати досліджень та їх обговорення

При обстеженні Гетьманівського дендропарку було виявлено, що у ньому зростає 55 видів деревних рослин (табл. 1). Вони відносяться до 38 родин, 23 родин, 2 класів, 2 відділів. Всього знайдено 5 видів голонасінних та 50 — покритонасінних (співвідношення 1:10). У складі дендрофлори переважають представники родини *Rosaceae* (12 видів) та родини *Ulmaceae* (6 видів). Пануючими родами є *Ulmus* (5 видів), *Acer* (5 видів), *Tilia* (3 види).

Дендрофлора парку представлена 44 деревами, 9 кущами та 2 ліанами. Таким чином, дерев виявлено у 5 разів більше, ніж кущів.

Розподіл рослин за географічним походженням свідчить, що 22 види (40%) формують природні фітоценози Савранського лісу або входять до їх складу у незначній кількості. Це *Acer campestre*, *A. platanoides*, *A. pseudoplatanus*, *A. tataricum*, *Carpinus betulus*, *Cerasus avium*, *Cornus mas*, *Crataegus curvicepala*, *C. monogyna*, *Euonymus europaea*, *Fraxinus excelsior*, *Prunus divaricata*, *Pyrus communis*, *Quercus robur*, *Rhamnus cathartica*, *Rosa canina*, *Sambucus nigra*, *Sorbus torminalis*, *Ulmus carpinifoliae* *U. laevis*, *U. suberosa*. Ще 7 видів завезені з інших країн і широко розповсюджені у лісовому господарстві. Це *Acer negundo*, *Celtis australis*, *Fraxinus lanceolata*, *Gleditsia triacanthos*, *Juglans regia*, *Pinus silvestris*, *Robinia pseudoacacia*. Також тут присутні інтродуковані рослини,

які широко розповсюджені у зелених насадженнях населених пунктів Одеської області (11 видів): *Aesculus hippocastanum*, *Cerasus vulgaris*, *Chaenomeles japonica*, *Juniperus virginiana*, *Malus domestica*, *Parthenocyssus quinquelobatus*, *Philadelphus coronarius*, *Populus deltoides*, *Sophora japonica*, *Syringa vulgaris*, *Ulmus pumila*. Лише 6 видів можна вважати відносно рідкісними у зеленому будівництві. Саме вони мають найбільшу цінність серед всіх насаджень парку. Це *Abies cephalonica*, *Clematis vitalba*, *Corylus colurna*, *Pinus nigra*, *Tilia caroliniana*, *Ulmus americana*. Особливої уваги заслуговує *Tilia caroliniana*, яка, за певними джерелами [6–11, 14], ніде в Україні не зафіксована, в тому числі і в ботанічних садах [15]. Втім вона легко ідентифікується [8, 13]. За іншими даними, вона культивується в Україні і Молдові [13].

Таблиця 1

Видовий та кількісний склад дендрофлори Гетьманівського дендропарку

Назва виду	Наявність у парку		Кількість рослин, екз.	Доля виду, % від загальної кількості
	1940 р. [5]	2005 р.		
1. <i>Abies cephalonica</i> Loud.	-	+	1	0,1
<i>Abies alba</i> Mill.*	+	-	-	-
2. <i>Acer campestre</i> L.	+	+	113	13,0
<i>Acer monspessulanum</i> L.	+	-	-	-
3. <i>Acer negundo</i> L.	+	+	9	1,1
4. <i>Acer platanoides</i> L.	+	+	217	25,0
5. <i>Acer pseudoplatanus</i> L.	+	+	29	3,4
<i>Acer saccharinum</i> L.	+	-	-	-
6. <i>Acer tataricum</i> L.	-	+	2	0,2
7. <i>Aesculus hippocastanum</i> L.	+	+	23	2,7
<i>Ailanthus altissima</i> (Mill.) Swingle	+	-	-	-
<i>Betula pendula</i> Roth	+	-	-	-
<i>Platycladus orientalis</i> (L.) Franco	+	-	-	-
<i>Caragana arborescens</i> Lam.	+	-	-	-
8. <i>Carpinus betulus</i> L.	+	+	3	0,4
<i>Catalpa bignonioides</i> Walt.	+	-	-	-
9. <i>Celtis australis</i> L.	-	+	2	0,2
10. <i>Cerasus avium</i> (L.) Moench	-	+	23	2,7
11. <i>Cerasus vulgaris</i> Mill.	-	+	1	0,1
12. <i>Chaenomeles japonica</i> (Thunb.) Lindl.	-	+	1	0,1
13. <i>Clematis vitalba</i> L.	+	+	+	+
<i>Colutea arborescens</i> L.	+	-	-	-
14. <i>Cornus mas</i> L.	-	+	3	0,4
<i>Corylus avellana</i> L.	+	-	-	-
15. <i>Corylus colurna</i> L.	-	+	3	0,4
16. <i>Crataegus curvicepala</i> Lindm.	-	+	1	0,1
17. <i>Crataegus monogyna</i> Jack.	+	+	5	0,6
<i>Deutzia scabra</i> Thunb.	+	-	-	-
<i>Elaeagnus angustifolia</i> L.	+	-	-	-

Продовження таблиці 1

Назва виду	Наявність у парку		Кількість рослин, екз.	Доля виду, % від загальної кількості
	1940 р. [5]	2005 р.		
<i>Elaeagnus argentea</i> Pursh.	+	-	-	-
18. <i>Euonymus europaea</i> L.	+	+	+	+
<i>Fagus sylvatica</i> L.	+	-	-	-
<i>Fraxinus americana</i> L.	+	-	-	-
19. <i>Fraxinus excelsior</i> L.	-	+	86	10,0
20. <i>Fraxinus lanceolata</i> Borkh.	-	+	2	0,2
<i>Ginkgo biloba</i> L.	+	-	-	-
21. <i>Gleditsia triacanthos</i> L.	+	+	1	0,1
22. <i>Gymnocladus dioica</i> (L.) C.Koch.	+	+	5	0,6
23. <i>Juglans regia</i> L.	+	+	31	3,6
<i>Juniperus communis</i> L.	+	-	-	-
24. <i>Juniperus virginiana</i> L.	+	+	3	0,4
<i>Laburnum anagyroides</i> Medik.	+	-	-	-
25. <i>Larix decidua</i> L.	+	+	1	0,1
26. <i>Ligustrum vulgare</i> L.	+	+	+	+
<i>Lonicera tatarica</i> L.	+	-	-	-
27. <i>Lycium barbatum</i> L.	+	+	+	+
<i>Maclura pomifera</i> (Rafin.) Schneid.	+	-	-	-
28. <i>Malus domestica</i> Borkh.	+	+	11	1,3
29. <i>Malus prunifolia</i> (Ait.) Borkh.	-	+	2	0,2
<i>Morus alba</i> L.	+	-	-	-
<i>Morus nigra</i> L.	+	-	-	-
30. <i>Parthenocissus quinquefolia</i> (L.) Planch.	+	+	+	+
31. <i>Philadelphus coronarius</i> L.	+	+	+	+
<i>Picea abies</i> (L.) Karst.	+	-	-	-
<i>Picea pungens</i> Engelm.	+	-	-	-
32. <i>Pinus nigra</i> Arnold.	+	+	3	0,4
33. <i>Pinus silvestris</i> L.	+	+	1	0,1
<i>Pinus strobus</i> L.	+	-	-	-
<i>Platanus orientalis</i> L.	+	-	-	-
<i>Populus alba</i> L.	+	-	-	-
34. <i>Populus deltoides</i> Marsh.	-	+	1	0,1
35. <i>Prunus divaricata</i> Ledeb.	-	+	3	0,4
36. <i>Prunus spinosa</i> L.	+	+	+	+
<i>Ptelea trifoliata</i> L.	+	-	-	-
37. <i>Pyrus communis</i> L.	-	+	7	0,8
<i>Quercus petraea</i> (Mattuschka) Liebl.	+	-	-	-
<i>Quercus pubescens</i> Willd.	+	-	-	-
38. <i>Quercus robur</i> L.	+	+	9	1,1
39. <i>Rhamnus cathartica</i> L.	+	+	1	0,1
40. <i>Robinia pseudoacacia</i> L.	+	+	96	11,0
41. <i>Rosa canina</i> L.	+	+	+	+
42. <i>Salix alba</i> L.	-	+	2	0,2
<i>Salix babylonica</i> L.	+	-	-	-
43. <i>Salix fragilis</i> L.	+	+	5	0,6

Закінчення таблиці 1

Назва виду	Наявність у парку		Кількість рослин, екз.	Доля виду, % від загальної кількості
	1940 р. [5]	2005 р.		
44. <i>Sambucus nigra</i> L.	+	+	8	0,9
45. <i>Sophora japonica</i> L.	+	+	5	0,6
<i>Sorbus aucuparia</i> L.	+	-	-	-
46. <i>Sorbus torminalis</i> (L.) Crantz.	+	+	2	0,2
<i>Spiraea salicifolia</i> L.	+	-	-	-
<i>Symphoricarpus albus</i> L.	+	-	-	-
47. <i>Syringa vulgaris</i> L.	+	+	+	+
<i>Taxus baccata</i> L.	+	-	-	-
48. <i>Tilia</i> sp.**	-	+	2	0,2
<i>Tilia platyphyllos</i> Scop.	+	-	-	-
49. <i>Tilia caroliniana</i> Mill.	-	+	1	0,1
50. <i>Tilia cordata</i> Mill.	+	+	12	1,4
51. <i>Ulmus pumila</i> Mill.	+	+	78	9,1
52. <i>Ulmus americana</i> L.	-	+	2	0,2
53. <i>Ulmus carpinifolia</i> Rupp. ex G. Suckow	+	+	3	0,4
54. <i>Ulmus glabra</i> Huds.	+	-	-	-
55. <i>Ulmus laevis</i> Pall.	-	+	18	2,1
56. <i>Ulmus suberosa</i> Moench.	-	+	26	3
<i>Viburnum opulus</i> L.	+	-	-	-
Всього	72	55	863	100,0

Примітка: * — без номера наведено види, що зростали у парку до 1940 року [5], але зараз їх немає. ** — Даний вид липи не ідентифіковано через відсутність його ознак у визначниках [6–11, 13].

Відповідно до флористичного районування земної кулі А. Л. Тахтаджяном [16], у парку переважають рослини з Циркумбореальної (36 видів), Середземноморської (28) та Ірано-Туранської (27 видів) флористичних областей. Багато рослин з Атлантично-Північноамериканської (16) і Східноазіатської (13 видів) областей.

Суцільний перерахунок дерев у парку показав, що кількісно тут переважають *Acer platanoides* (23,4% всіх дерев), *A. campestre* (13,2%), *Robinia pseudoacacia* (11,2%), *Fraxinus excelsior* (10,1%), *Ulmus pumila* (9,1%), тобто рослини природної флори або широко розповсюджені види, які добре натуралізувалися в умовах півдня України.

Одиничними екземплярами у парку представлені *Abies cephalonica*, *Gleditsia triacanthos*, *Larix decidua*, *Pinus sylvestris*, *Populus deltoides*, *Tilia caroliniana*. Від 2 до 5 екземплярів нараховують *Gymnocladus dioica*, *Juniperus virginiana*, *Pinus nigra*, *Malus prunifolia* тощо.

Обміри діаметрів всіх дерев дозволили визначити найбільші з них. У парку є лише одна порода, діаметр стовбура якої більше 1 м — це *Aesculus hippocastanum* (діаметр 105 см). Майже таких самих розмірів досягають *Abies cephalonica* (97 см), *Tilia caroliniana*

(96 см), *Ulmus pumila* (94 см). Також великим діаметром стовбура характеризуються *Corylus colurna* (89 см), *Quercus robur* (85 см), *Acer campestre* (81 см), *Ulmus americana*, *Fraxinus excelsior* (по 78 см), *Acer pseudoplatanus*, *Tilia cordata* (по 75 см), *Acer campestre* (72 см), *Celtis australis*, *Gymnocladus dioicus* (по 68 см), *Larix decidua* (66 см), *Gleditsia triacanthos* (60 см), *Sophora japonica*, *Cerasus avium* (по 59 см), *Carpinus betulus* (55 см) та *Pinus nigra* (53 см). Таким чином, у 22 видів діаметр стовбура перевищує півметра.

У парку добре самовідтворюються *Acer campestre*, *A. platanoides*, *A. pseudoplatanus*, *Cerasus avium*, *Fraxinus excelsior*, *Juglans regia*, *Robinia pseudoacacia*, *Ulmus glabra*, *U. pumila*. Відтворення *Quercus robur*, *Aesculus hippocastanum*, *Tilia cordata* та ін. майже не відбувається. Молоді рослини цих видів, якщо і виростили з насіння, гинуть, у парку зберігаються лише дорослі екземпляри, посаджені людиною.

Вивчення всіх дерев свідчить, що у доброму та задовільному стані знаходиться лише 29,5% насаджень, незадовільний мають 70,5% рослин. Добре почуваються, в основному, молоді рослини. Серед старих дерев такими є *Abies cephalonica*, *Gymnocladus dioicus*, *Larix decidua*, *Tilia caroliniana*. У значній кількості дерев утворилися дупла, є сухі, зламані гілки тощо. Це свідчить про необхідність термінових відновних робіт.

Отримані дані дозволили порівняти наш список з даними 1940 року [5]. Тоді у Гетьманівському дендропарку зростало 72 види деревних рослин (табл. 1). З них 52 представлені деревами, 18 — кущами, 2 — ліанами.

Як свідчать дані таблиці, нами не знайдено 39 видів з тих, що наводив Г. Й. Потапенко (з них 27 видів дерев та 11 — кущів). Таким чином, за 70 років зникло більше половини видів. Відмирання деяких рослин було зафіксовано ще у 1940 р. [5]. Це *Catalpa bignonioides*, *Deutzia scabra*, *Fagus sylvatica*, *Ginkgo biloba*, *Picea abies*, *P. pungens*, *Juniperus virginiana*, *Maclura pomifera*. Цілком зрозуміло, що багато видів випало зі складу дендрофлори внаслідок відсутності догляду протягом багатьох років.

У той же час ми наводимо 21 новий вид. Це можна пояснити тим, що деякі рослини були введені у насадження або з'явилися у парку спонтанно пізніше. Крім того, порівнюючи списки, ми виявили, що іноді вони розрізняються через неточність визначення деяких рослин (наприклад, замість *Abies cephalonica* Г. Й. Потапенко [5] наводив *Abies alba*, замість *Corylus colurna* — *Corylus avellana*, замість *Salix alba* — *Salix babylonica*).

Дані Г. Й. Потапенка (табл. 1) дозволяють визначити види, які треба ввести до складу дендрофлори при майбутній історичній реконструкції цієї пам'ятки садово-паркового мистецтва.

Висновки

1. Сучасна дендрофлора Гетьманівського дендропарку складається з 55 видів (44 види дерев, 9 — кущів та 2 — ліан)

- з 38 родів та 23 родин. Панують родини *Rosaceae* та *Ulmaceae*, роди *Ulmus* та *Acer*.
2. Кількісно переважають *Acer platanoides*, *A. campestre*, *Fraxinus excelsior*, *Robinia pseudoacacia*, *Ulmus pumila*. Перші три види — рослини природної флори, розповсюджені у прилеглому Савранському лісі. Два останніх види добре натуралізувалися в умовах півдня України.
 3. У парку багато старих дерев. У семи видів зафіксовано рослини з діаметром стовбура більше 80 см. Це *Aesculus hippocastanum*, *Abies cephalonica*, *Tilia caroliniana*, *Ulmus pumila*, *Corylus colurna*, *Quercus robur*, *Acer campestre*. Діаметр стовбура більше 50 см зустрічається у 22 видів.
 4. Фітосанітарний стан більшості рослин парку незадовільний. Це вимагає негайного проведення відновлювальних робіт: прибирання відмерлих дерев, спилювання сухих гілок, лікування рослин, які мають дупла та пошкоджену кору.
 5. Протягом 70 років дендрофлора парку збідніла. З 72 видів, які наводив Г. Й. Потапенко, зникло більше половини (39) та з'явилося чимало нових (21 вид). Зникли, в основному, інтродуковані з інших країн та завезені з більш північних районів України рослини. Доля автохтонних видів зростає.
 6. Видовий склад Гетьманівського дендропарку не дуже багатий. За багатством видів цей парк знаходиться на рівні напівприродних лісових масивів лісостепової зони. Його дендрофлора у 2–2,5 рази бідніша, ніж у найбагатших парках м. Одеси.

Сучасна цінність Гетьманівського парку як штучно створеного об'єкту природно-заповідного фонду полягає в тому, що тут збереглися старі дерева багатьох видів, частина яких знаходиться у задовільному стані. Деякі з цих рослин є рідкісними у насадженнях Одеської області.

Література

1. Одеська область // Природно-заповідний фонд Української РСР. — К.: Урожай, 1986. — С. 107–111.
2. Реєстр територій і об'єктів природно-заповідного фонду Одеської області. — О., 1988. — 39 с.
3. Леоненко В. Б., Стеценко М. П., Возний Ю. М. Додаток до атласу об'єктів природно-заповідного фонду України. — К.: Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", 2003. — 142 с.
4. Дидух Я. П., Шеляг-Сосонко Ю. Р. Геоботаническое районирование Украины и смежных территорий // Укр. ботан. журн. — 2003. — Т. 60, № 1. — С. 6–17.
5. Потапенко Г. І. Паркові насадження Одеської області // Труды Одесского гос. ун-та. Биология. — Т. 4. — 1940. — С. 40–98.
6. Дендрофлора України. Дикорослі й культивовані дерева і кущі. Голонасінні. Довідник. — К.: Фітосоціоцентр, 2001. — 207 с.
7. Дендрофлора України. Дикорослі й культивовані дерева і кущі. Покритонасінні. Частина 1. Довідник. — К.: Фітосоціоцентр, 2002. — 448 с.

8. *Деревья и кустарники СССР*. — М.; Л. — Изд-во АН СССР, 1949–1962. — Т. 1–6.
9. *Деревья и кустарники, культивируемые в Украинской ССР. Покрытосеменные. Справочник*. — К.: Наук. думка, 1986. — 720 с.
10. *Деревья и кустарники. Покрытосеменные: Справочник*. — К.: Наук. думка, 1974. — 591 с.
11. *Определитель высших растений Украины* / Д. Н. Доброчаева, М. И. Котов, Ю. Н. Прокудин и др. — К.: Наук. думка, 1987. — 548 с.
12. *Mosyakin S., Fedoronchuk M. Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist*. — К., 1999. — 346 p.
13. *Васильев И. В. Сем. 79. Tiliaceae Juss. — Липовые // Флора Восточной Европы*. — Т. 9. — Санкт-Петербург: Мир и семья-95, 1996. — С. 225–230.
14. *Кохно М. А. Каталог дендрофлоры Украины*. — К.: Фитосоцицентр, 2001. — 72 с.
15. *Каталог деревьев и кустарников ботанических садов Украинской ССР* / Н. Ф. Кохно и др. — К.: Наук. думка, 1987. — 72 с.
16. *Техтаджян А. Флористические области Земли*. — Наука, 1978. — 248 с.

О. М. Попова

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

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ДЕНДРОФЛОРЫ ГЕТЬМАНОВСКОГО ДЕНДРОПАРКА

Резюме

В 2005 г. в парке было зафиксировано 55 видов древесных растений (44 дерева, 9 кустарников и 2 лианы). Количественно преобладают *Acer platanoides*, *A. campestre*, *Fraxinus excelsior*, *Robinia pseudoacacia*, *Ulmus pumila*. Старые деревья *Aesculus hippocastanum*, *Abies cephalonica*, *Tilia caroliniana*, *Ulmus pumila*, *Corylus colurna*, *Quercus robur*, *Acer campestre* имеют диаметр ствола больше 80 см. Растения 22 видов имеют диаметр ствола больше 50 см. Фитосанитарное состояние большинства растений парка неудовлетворительное. Поэтому необходимо провести срочные восстановительные работы.

Ключевые слова: дендрофлора, Одесская область, природно-заповедный фонд.

Е. N. Popova

The Mechnikov Odessa National University, Department of Botany,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

MODERN STATE OF THE GETMANIVSKY PARK DENDROFLORA

Summary

55 woody species (44 trees, 9 scrubs, 2 lians) were found out in the park in 2005. *Acer platanoides*, *A. campestre*, *Fraxinus excelsior*, *Robinia pseudoacacia*, *Ulmus pumila* quantitatively predominate prevale. The old plants *Aesculus hippocastanum*, *Abies cephalonica*, *Tilia caroliniana*, *Ulmus pumila*, *Corylus colurna*, *Quercus robur*, *Acer campestre* have trunk diameter of more than 80 cm. 22 species have the diameter more than 50 cm. Phytosanitary state of the most plants is unsatisfactory. Therefore it is necessary to carry out the urgent restoring.

Keywords: dendroflora, Odessa region, protected areas.

ГІДРОБІОЛОГІЯ
І ЕКОЛОГІЯ



УДК 574.526

М. М. Джуртубаев, канд. биол. наук, доцент, **В. В. Заморев**, канд. биол. наук, зав. каф., **О. В. Пенева**, специалист
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра гидробиологии и общей экологии,
Шампанский переулок, 2, Одесса, 65058, Украина

ЗООБЕНТОС ОЗЕРА КАГУЛ

1. Таксономический состав и распределение видов

Приведены результаты изучения таксономического состава зообентоса озера Кагул, распределения видов по акватории озера на прибрежном мелководье и за его пределами летом 2004 - 2005 гг.

Ключевые слова: озеро Кагул, зообентос, распределение видов.

Придунайские озера, расположенные в пределах Одесской области, — крупнейшая по площади и объему вод группа озер в Украине [1, 2]. Создание во второй половине XX века каналов и шлюзов привело к сокращению связи озер с Дунаем. Значительно изменился гидробиологический режим озер; идет процесс превращения их лиманно-каспийской фауны в типично озерную [3].

Одно из крупнейших — озеро Кагул. Его площадь, в зависимости от уровня, составляет 86,7–105,0 км²; объем оценивается в 180–250 млн. м³, а максимальная глубина — от 2 до 7 м [1, 4, 5, 6, 7]. Важно отметить, что озеро Кагул по гидрохимическим показателям является наиболее благополучным среди крупнейших придунайских озер [8].

Гидробиологические исследования на Кагуле проводятся давно [4, 6, 7, 9]. Среди работ последних лет выделим проект TACIS "Придунайские озера: устойчивое сохранение и восстановление естественного состояния и экосистем". В ходе исследований большое внимание было уделено макро- и мейобентосу [10]. В настоящее время гидробиологические и ихтиологические исследования на озерах в рамках госбюджетной тематики Министерства образования и науки Украины проводит кафедра гидробиологии и общей экологии ОНУ.

Цель настоящего исследования — изучить зообентос озера Кагул в современных экологических условиях. Исследовали таксономический состав макрозообентоса на прибрежном мелководье и за его пределами, распределение видов по акватории озера, а также численность и биомассу. В данной работе приведены результаты изучения видового состава и распределения видов. Количественную характеристику зообентоса мы предполагаем представить в следующей статье.

Материалы и методы исследования

Материал собирали в июле – августе 2004–2005 гг. на шести станциях на прибрежном мелководье и на семи — за его пределами (рис. 1).

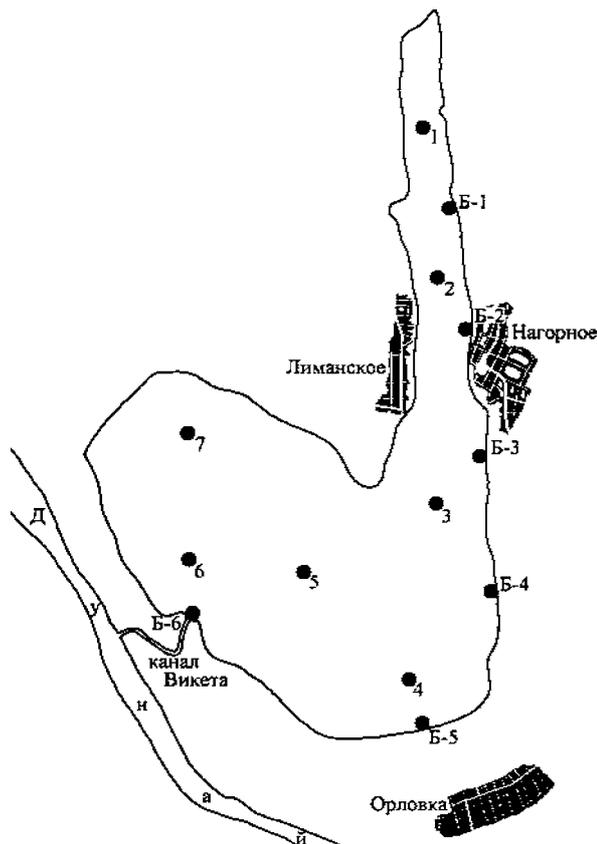


Рис. 1. Схема расположения бентосных станций на озере Кагул:

Б-1...Б-6 — прибрежные станции; 1...7 — станции за пределами прибрежного мелководья

Пробы собраны штанговым дночерпателем (площадь захвата 0,02 м²), а на мелководье, кроме того, скребком (ширина 0,3 м) и сачком (диаметр 0,3 м) по стандартной методике [11]. Грунт в местах сбора на мелководье — ил, илистый песок, часто с зарослями макрофитов; глубина до 0,5 м. За пределами прибрежного мелководья грунт — ил, сильно заиленная ракушка; глубина — от 0,6 м до 2,5 м. Всего на мелководье собрано 40 проб, за его пределами — 20. В качестве верховья озера рассматривалась его север-

ная узкая часть (ст. 1, 2, Б-1, Б-2), в средней части расположены ст. 3, 5, 6, 7, Б-3, Б-4; в низовье — ст. 4, Б-5, Б-6.

Результаты исследования и их обсуждение

В озере Кагул летом 2004–2005 годов найдено 36 видов макрозообентоса из 33 родов и 25 семейств (табл. 1).

Таблица 1

Таксономический состав макрозообентоса озера Кагул (А — на прибрежном мелководье; Б — за пределами прибрежного мелководья)

Таксоны	Верховье		Средняя часть озера		Низовье	
	А	Б	А	Б	А	Б
<i>Polychaeta</i>						
Семейство <i>Ampharetidae</i>						
<i>Hypania invalida</i> (Grube)	+	-	+	+	+	-
<i>Hypaniola kowalewskyi</i> (Grimm)	-	+	-	-	-	-
<i>Oligochaeta</i>						
Семейство <i>Tubificidae</i>						
<i>Potamotrix hammoniensis</i> (Michael.)	+	+	+	+	+	+
<i>Psammoryctides barbatus</i> (Grube)	-	+	-	+	-	-
<i>Limnodrilus udekemianus</i> Claparede	+	-	+	-	+	-
<i>L. hoffmeisteri</i> Claparede	-	+	-	-	-	-
Семейство <i>Naididae</i>						
<i>Ophidonais seprentina</i> (O. F. Muller)	+	+	-	+	-	-
<i>Hirudinea</i>						
Семейство <i>Glossiphoniidae</i>						
<i>Glossiphonia complanata</i> (Linne)	+	-	+	-	+	-
Семейство <i>Erpobdellidae</i>						
<i>Erpobdella octoculata</i> (Linne)	+	-	+	-	+	-
<i>Isopoda</i>						
Семейство <i>Asellidae</i>						
<i>Asellus aquaticus</i> Linne	+	-	+	-	+	-
<i>Amphipoda</i>						
Семейство <i>Gammaridae</i>						
<i>Dikerogammarus haemobaphes</i> Sow.	+	+	+	+	+	-
<i>D. villosus</i> (Sow.)	-	-	-	+	-	-
<i>Pontogammarus robustoides</i> (G. Sars)	+	+	-	-	+	-
Семейство <i>Corophiidae</i>						
<i>Corophium curvispinum</i> G. Sars	-	+	+	+	+	-
<i>Mysidacea</i>						
Семейство <i>Mysidae</i>						
<i>Lymnomysis benedeni</i> Czern.	+	-	+	-	+	-
<i>Paramysis intermedia</i> (Czern.)	-	+	-	+	-	-
<i>Odonata</i>						
Семейство <i>Coenagrionidae</i>						
<i>L. Coenagrion pulchellum</i> (Linden)	-	-	-	-	+	-

Окончание таблицы 1

Таксоны	Верховье		Средняя часть озера		Низовье	
	А	Б	А	Б	А	Б
Ephemeroptera						
Семейство Baetidae						
<i>L. Cloëon dipterum</i> Linne	+	-	-	-	+	-
Coleoptera						
Семейство Dytiscidae						
<i>L. Dytiscus marginalis</i> Linne	+	-	-	-	+	-
Heteroptera						
Семейство Notonectidae						
<i>Notonecta glauca</i> Linne	+	-	+	-	+	-
Семейство Nepidae						
<i>Ranatra linearis</i> Linne	+	-	-	-	+	-
Diptera						
Семейство Chironomidae						
<i>L. Chironomus plumosus</i> Linne	+	+	+	+	+	+
<i>L. Tanytus punctipennis</i> Meigen	-	+	-	-	-	-
<i>L. Cricotopus silvestris</i> Fabricius	+	-	+	+	+	-
Gastropoda						
Семейство Neritidae						
<i>Theodoxus fluviatilis</i> (Linne)	+	-	+	-	+	-
Семейство Viviparidae						
<i>Viviparus contectus</i> Millet	+	-	+	-	+	-
<i>V. viviparus</i> (Linne)	+	-	+	-	+	-
Семейство Lithoglyphidae						
<i>Lithoglyphus naticoides</i> Pfeiffer	+	-	+	+	+	-
Семейство Bithyniidae						
<i>Bithynia tentaculata</i> (Linne)	+	-	+	+	+	+
Семейство Limnaeidae						
<i>Limnaea stagnalis</i> (Linne)	+	-	+	-	+	-
Семейство Bulinidae						
<i>Planorbarius corneus</i> (Linne)	+	-	+	-	+	-
Bivalvia						
Семейство Unionidae						
<i>Unio pictorum</i> (Linne)	+	+	+	+	+	+
<i>Anodonta cygnea</i> (Linne)	+	-	+	-	+	-
Семейство Dreissenidae						
<i>Dreissena polymorpha</i> (Pallas)	+	+	+	+	+	-
Семейство Cardiidae						
<i>Hypanis pontica</i> (Eichw.)	-	+	-	+	-	+
Семейство Sphaeriidae						
<i>Sphaerium corneum</i> (Linne)	-	-	-	+	-	-
Всего видов	26	14	22	16	27	5

Как видно, наибольшим количеством видов — двенадцатью — представлены моллюски (семь видов — брюхоногих и пять — двустворчатых). Кольчатых червей (полихеты, олигохеты, пиявки) обнаружили девять видов, ракообразных — семь, насекомых, личинок насекомых — восемь.

На прибрежном мелководье найдено 28 видов, за его пределами — 20. Коэффициент видового сходства Серенсена зообентоса этих участков озера — 50%. Только на мелководье обнаружено 16 видов: оба вида пиявок, *A. aquaticus*, *N. glauca*, *R. lineata*, *C. dipterum*, *Th. fluviatilis*, *V. contectus*, *V. viviparus*, *L. stagnalis*, *P. corneum*, *A. sygneae*, и др. (табл. 1). Обилие макрофитов на прогреваемом солнцем мелководье создает благоприятные условия для его обитателей — личинок насекомых, моллюсков, др. С другой стороны, некоторые виды входят также в комплекс беспозвоночных зарослевого сообщества.

Только за пределами прибрежного мелководья встречались 8 видов: полихета *H. kowalewskyi*, двустворчатые моллюски *H. pontica* и *S. corneum*, др. (табл. 1).

Больше всего видов приурочено к верховью озера — 33 из 36. В средней части и в низовье зафиксировано по 28 видов. Коэффициент видового сходства Серенсена здесь очень большой — 82,1%. И в средней части озера, и в низовье встречаются все семь видов брюхоногих моллюсков, четыре из пяти видов двустворчатых, оба вида пиявок, четыре из семи видов ракообразных, два из трёх видов хирономид, и т. д. (табл. 1). Обнаружены в средней части озера, но отсутствовали в низовье олигохеты *P. barbatus*, *O. serpentina*, амфиподы *D. villosus*, мизиды *P. intermedia*, двустворчатка *S. corneum*. Подавляющее большинство найденных в средней части озера видов — 27 из 28 — встречаются и в верховье (табл. 1). Из видов, найденных в низовье, в средней части озера не обнаружили амфиподу *P. robustoides*, личинок стрекоз, поденок, жуков-плавунцов, ранадру *R. linearis*. В то же время *P. robustoides*, личинки поденок *C. dipterum* и ранадра встречаются в верховье озера.

По всей акватории озера встречается 23 вида, т. е. около 64% их общего количества (табл. 1). Таким образом, можно говорить об относительно равномерном распределении количества видов донных беспозвоночных в бентали озера.

Наиболее богат в видовом отношении бентос на ст. Б-6 в районе канала Викета, соединяющего озеро с Дунаем. Здесь обнаружено 26 видов — более 72% от общего количества найденных. Это, в частности, оба вида пиявок, большинство видов амфипод, шесть из семи видов брюхоногих моллюсков, и т. д.

Столь же богато мелководье в верховье озера (ст. Б-1), где найдено 24 вида. Видовой состав здесь практически тот же, что и на ст. Б-6. Не найдены лишь *E. octoculata*, *C. curvispinum* и личинки *C. pulchellum*. Отмечен брюхоногий моллюск *Th. euxinus*, не найденный на ст. Б-6. На остальных прибрежных станциях количество обнаруженных видов колебалось от восьми до 18.

За пределами прибрежного мелководья больше всего видов — по 12 — найдено в верховье на ст. 1, а также на ст. 3, где узкое верховье переходит в широкую основную акваторию озера. Видовой состав зообентоса на этих станциях характеризуется значительным сходством — коэффициент Серенсена составляет около 50%. Общими для обеих станций являются *P. hammoniensis*, *C. curvispinum*, *P. intermedia*, личинки *Ch. plumosus*, *D. polymorpha*, и др. На других станциях вне прибрежного мелководья находили от трех до семи видов.

Сильно варьирует частота встречаемости отдельных видов. Лишь личинки *Ch. plumosus* обнаружены на всех 13 станциях, во всех пробах. На прибрежном мелководье 100% частотой встречаемости характеризуется гладыш *N. glauca*. По всем без исключения группам зообентоса в прибрежной зоне частота встречаемости видов выше. Например, для олигохет этот показатель в прибрежье составляет 16,7–83,3%, за его пределами — от 14,3 до 57,1%; для брюхоногих моллюсков, соответственно, 50,0–66,6% и 28,6–42,9%.

В целом по озеру 90–100% частотой встречаемости характеризуются олигохеты и личинки хирономид. В 60–90% проб попадались полихеты, амфиподы, брюхоногие и двустворчатые моллюски. Частота встречаемости пиявок, изопод, мизид, полужесткокрылых составила 30–50%. В 10–30% проб находили личинок поденок и жуков-плавунцов; менее чем в 10% проб встречались личинки стрекоз.

Выводы

1. В озере Кагул летом 2004–2005 гг. выявлено 36 видов макрозообентоса из 33 родов и 25 семейств: кольчатых червей — девять видов, ракообразных — семь, насекомых, личинок насекомых — восемь, брюхоногих моллюсков — семь, двустворчатых моллюсков — пять видов.
2. По всей акватории озера встречаются 23 вида; в верховье — 33 вида, в средней части и в низовье озера — по 28 видов.
3. На прибрежном мелководье обнаружено 28 видов, за его пределами — 20. Коэффициент видового сходства Серенсена зообентоса этих экологических зон составляет 50%.
4. Личинки *Ch. plumosus* характеризуются 100% частотой встречаемости. На всех прибрежных станциях встречается *N. glauca*. В целом, на прибрежных мелководьях частота встречаемости видов выше, чем за его пределами. Наиболее обычны в озере личинки хирономид, олигохеты, полихеты, амфиподы, брюхоногие и двустворчатые моллюски.

Литература

1. Швец Г. Г., Игошин М. И. Каталог річок і водойм України. — О.: Астропринт, 2003. — 392 с.

2. Романенко В. Д. Основы гидроэкологии. — К.: Генеза, 2004. — 664 с.
3. Ляшенко А. В., Воликов Ю. Н. Сапробиологическая характеристика экологического состояния озера-лимана Ялпуг по организмам макрозообентоса // Гидробиол. журн. — 2001. — Т. 37, № 3. — С. 74–81.
4. Марковский Ю. М. Фауна беспозвоночных низовьев рек Украины, условия ее существования и пути использования. III. Водоемы Килийской дельты Дуная. — К.: Изд-во АН УССР, 1955. — 280 с.
5. Владимирова К. С., Зеров К. К. Физико-географический очерк придунайских лиманов // Труды Ин-та гидробиологии АН УССР. — 1961. — № 36. — С. 185–193.
6. Озеро Кагул / Под ред. М. Ф. Ярошенко. — Кишинев: Штиинца, 1979. — 116 с.
7. Гидроэкология украинского участка Дуная и сопредельных водоемов / Под ред. В. Д. Романенко. — Киев: Наукова думка, 1993. — 329 с.
8. Деньга Ю. М., Мединец В. И. Гидрохимический режим и качество вод Придунайских озер // Вісник ОНУ. — 2002. — Т. 7, вип. 2. Екологія. — С. 17–25.
9. Оливари Г. А. Зообентос придунайских водоемов // Труды Ин-та гидробиологии АН УССР. — 1961. — № 36. — С. 264–273.
10. Джуртубаев М. М., Ковтун О. А. Зообентос Придунайских озер // Вісник ОНУ. — 2002. — Т. 7, вип. 2. Екологія. — С. 107–114.
11. Мониторинг макрозообентоса // Eco Grade. — 2001. — 12 с.

М. М. Джуртубаев, В. В. Заморов, О. В. Пенева

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра гідробіології та загальної екології,
Шампанський провулок, 2, Одеса, 65058, Україна

ЗООБЕНТОС ОЗЕРА КАГУЛ

1. Таксономічний склад і розподіл видів

Резюме

З'ясовано таксономічний склад та розподіл видів озера Кагул. Всього знайдено 36 видів. На прибережному мілководді зустрічається 26 видів, за його межами — 20. Найбільша частота стрівальності властива личинкам хірономід, олігохет, поліхет, амфіпод, черевоногих і двостулкових молюсків.

Ключові слова: озеро Кагул, зообентос, розподіл видів.

M. M. Dzhurtubaev, V. V. Zamorov, O. V. Peneva

Odessa National Mechnikov University,
Department of Hydrobiology and General Ecology,
Shampansky lane, 2, Odessa, 65058, Ukraine

ZOOBENTHOS OF THE KAGUL LAKE

1. Taxonomic composition and distribution of species

Summary

Taxonomic composition and distribution of species of zoobenthos of the Kagul Lake have been studied. 36 species were found out. 28 species are met in coastal shallow waters, 20 species are beyond its bounds. The number of larvae of Chironomus, Olygochaeta, Polychaeta, Amphipoda, Gastropoda and Bivalvia is most frequently come across.

Keywords: the Kagul Lake, zoobenthos, distribution of species.

УДК 57.083.184

О. А. Семенова, ассист., **В. Л. Базелян**, канд. биол. наук,
Г. Ю. Коломейченко, канд. биол. наук, **Абдул Манаф Юссеф**, студ.
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра гидробиологии и общей экологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина. Тел.: (0482) 68-77-93

ТОКСИЧНОСТЬ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ОЗЕРА КУГУРЛУЙ ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ПРЭСНОВОДНЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ

Приведены результаты биотестирования донных отложений озера КУГУРЛУЙ в 2005 г. с использованием в качестве тест-объектов лабораторных культур зеленых водорослей *Chlorella vulgaris* Beijer (*Chlorellaceae*) и *Selenastrum* sp. (*Selenestraceae*). Установлено, что разные виды зеленых пресноводных водорослей имеют неодинаковую чувствительность к загрязняющим веществам, аккумулярованным в донных отложениях. Загрязнение донных отложений имеет негативное влияние на экологическую ситуацию в водоеме. Действие донных отложений на флору оз. Кугурлуй носит хронический характер.

Ключевые слова: донные отложения, водоросли, биотестирование, токсичность.

Донные отложения — один из наиболее информативных компонентов экосистем водоемов, которые отражают совокупность процессов, происходящих в них и на всей площади водосбора. В современных условиях токсификации донные отложения могут быть индикаторами загрязнения водоемов различными органическими биогенными токсикантами. Обладая кумулятивными свойствами, донные отложения накапливают токсиканты и тем самым обуславливают качество воды всего водоема. По данным исследований [1, 2], в донных отложениях придунайских водоемов содержание тяжелых металлов в 2–15 раз больше, чем в почвах региона, с которыми они генетически связаны, и в десятки раз больше, чем в воде водоемов.

Наибольшую опасность в настоящее время представляют последствия техногенных катастроф, которые приводят к залповым сбросам в воду высоких концентраций смесей загрязняющих веществ.

Через некоторое время после техногенных катастроф 2000 г на предприятиях Румынии в воде и донных отложениях за счет высокой водности и скорости течения реки, разбавления и естественной детоксикации уровень загрязнения цианидами и другими токсическими соединениями, снижается до безопасного для гидробионтов [3].

Изучение токсичности дунайской воды методами биотестирования было начато в конце 70-х — начале 80 гг. Институтом гидробиологии НАНУ [4, 5]. Анализ ретроспективных данных Дунайского заповедника с 1997 г. свидетельствует, что острая токсичность проявлялась достаточно редко, носила импульсный характер и не приурочивалась к какому-нибудь определенному гидрологическому сезону или изменению отдельных режимных характеристик. Периодически регистрируемую токсичность связывали с присутствием взвешенных компонентов с адсорбированными на них токсическими веществами, в частности хлорорганическими пестицидами [6]. Однако, в связи с техногенными катастрофами в январе — марте 2000 г (утечкой цианидов и тяжелых металлов) экологотоксикологическая ситуация на малых реках среднего, нижнего Дуная, придунайских озерах, устьевой и приустьевой части была критической [6].

В последние годы регулярно проводились экспедиционные работы на озерах Ялпуг, Кугурлуй, Кагул, Котлабух, Китай в соответствии с программой проектов RC-TASIS WW SCRE 1/№1 "Придунайские озера, устойчивое сохранение и восстановление естественного состояния экосистем". Комплексные результаты исследований отобранных проб воды и донных отложений установили высокую степень их загрязнения токсичными веществами [7], обладающими не только прямым, но и опосредованным токсическим действием на флору и фауну водоема [8, 9]. В связи с этим цель данной работы состояла в оценке токсичности донных отложений озера Кугурлуй для различных видов пресноводных водорослей.

Материалы и методы

Материалом для проведения исследований служили донные отложения озера Кугурлуй, собранные в предполагаемо загрязненных (ст. 1, 3) и чистых участках (ст. 2, 4) в осенний период 2005 года в соответствии с нормативными требованиями [10], (рис. 1).

Отобранные пробы хранили без фиксации при температуре 4°C в холодильнике. Оценку токсичности донных отложений проводили методом биотестирования на одноклеточных водорослях [11, 12]. В качестве тест-объектов использовали лабораторные культуры пресноводных зеленых водорослей *Chlorella vulgaris* Bejer и *Selenastrum* sp., подрощенных на среде Прата [12]. Тест-показателем была численность клеток водорослей. Выяснение токсичности для тест-объектов проводили при концентрациях донных осадков 0,78; 1,56; 12,50; 50,00 г·л⁻¹ [13]. В экспериментах длительностью 240 часов учитывали изменения численности клеток тест-объектов в опытных и контрольных вариантах. Результаты исследований в 5-ти кратных повторностях обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента [14].

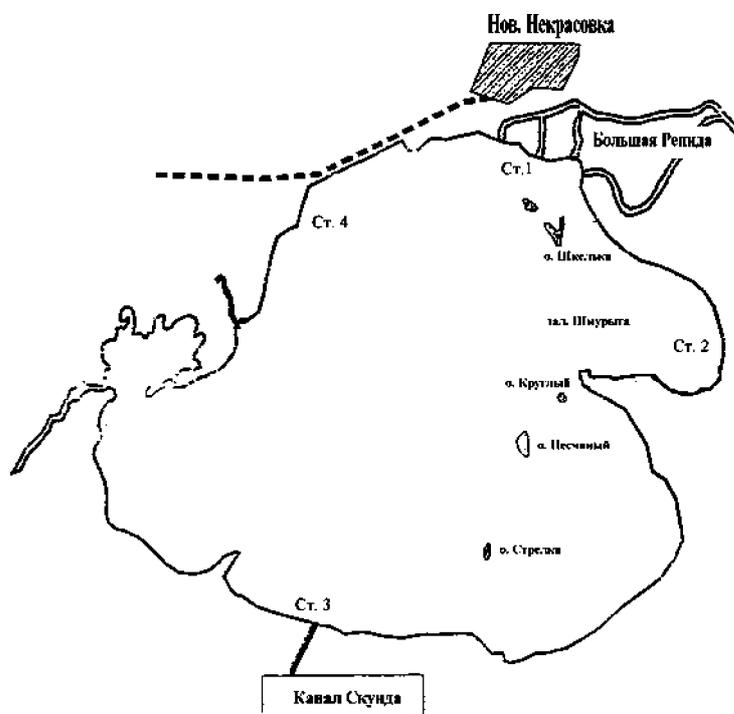


Рис. 1. Схема размещения станций отбора проб на озере Кугурлуй

Результаты исследований и их обсуждение

Результаты сравнительной оценки токсичности донных осадков различных станций пробоотбора озера Кугурлуй для различных видов зеленых водорослей представлены на рис. 2–5.

Донные отложения оз. Кугурлуй являются вмещителем различных загрязняющих веществ. Данные химического анализа свидетельствуют об устойчивом загрязнении нитратами, нитритами, нефтепродуктами, тяжелыми металлами, радионуклидами и другими вредными веществами [15, 16]. Выяснить влияние каждого отдельного фактора загрязнения чрезвычайно трудно. Как правило, проявляется совместный токсический эффект суммы загрязняющих веществ, влияющих на гидробионтов. Подобный эффект наблюдается в местах пробоотбора в заливе Шмурыга (ст. 2) и ст. 4 (рис. 1, 2, 3).

Донные осадки со станций 2 и 4 были наиболее токсичны для *Ch. vulgaris* (рис. 2, 3). В первые, и особенно в течение третьих суток эксперимента, наиболее высокие концентрации экстрактов ($50,00 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$ и $12,50 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$) вызывали рост количества клеток. Затем, спустя трое суток, численность *Ch. vulgaris* при указанных концентрациях экстрактов резко снижалась и оставалась низкой — вплоть до полного отсутствия роста клеток.

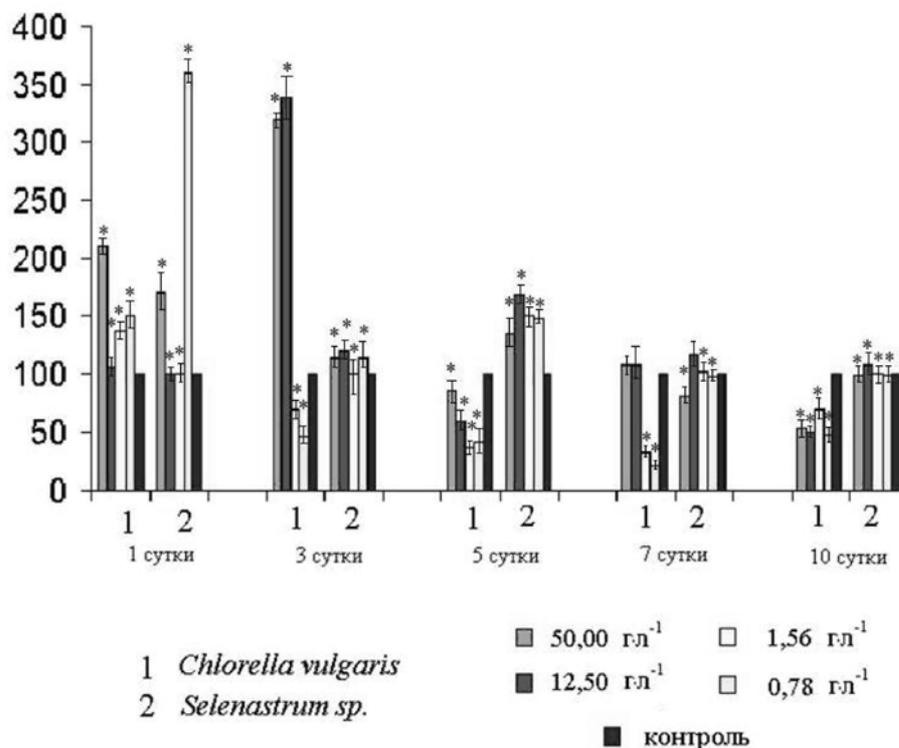


Рис. 2. Влияние различных концентраций донных осадков оз. Кугурлуй (ст. 2) на численность зеленых водорослей *Chlorella vulgaris* и *Selenastrum sp.*

Примечание: * — различия значений экспериментальных вариантов в сравнении с соответствующими контрольными вариантами достоверны при $p < 0.05$.

На оси ординат указана численность клеток водоросли в % от контроля; На оси абсцисс — длительность эксперимента, сутки.

Донные осадки места пробоотбора в районе канала Скунда (ст. 3) были наименее токсичными для тест-объектов (рис. 4). Вероятно, помимо комплекса токсических веществ, в этой акватории находится большое количество органико-минеральных веществ, необходимых для жизнедеятельности водорослей, нивелирующих действие токсикантов.

В опытах с донными осадками станции 3 оба вида водорослей практически не испытывали токсического влияния (рис. 4). В целом, значения численности клеток по итогам десятисуточных экспериментов приближались к контрольным значениям, т. е. к данным, полученным в опытах с культуральной средой без добавления к ней токсикантов. Наиболее действующими для обеих водорослей были концентрации донных осадков $50,00 \text{ гл}^{-1}$ и $12,50 \text{ гл}^{-1}$. В случае *Ch. vulgaris* эти концентрации стимулировали репродукцию клеток, а в опытах с *Selenastrum sp.*, наоборот, угнетали.

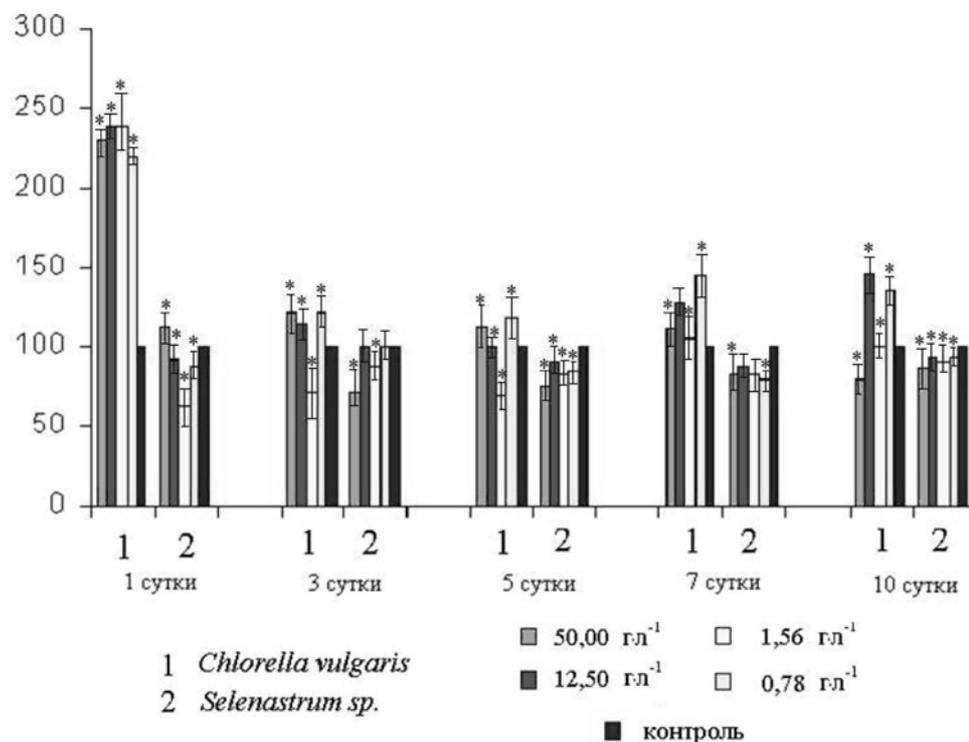


Рис. 3. Влияние различных концентраций донных осадков оз. Кугурлуй (ст. 4) на численность зеленых водорослей *Chlorella vulgaris* и *Selenastrum sp.*

Примечание: * — отличия значений экспериментальных вариантов в сравнении с соответствующими контрольными вариантами достоверны при $p < 0.05$.

По оси ординат — численность клеток водоросли в % от контроля; По оси абсцисс — длительность эксперимента, сутки.

Из представленных рисунков 2 и 4 наглядно видно, что зеленая водоросль *Ch. vulgaris* более чувствительна к влиянию токсических веществ, содержащихся в донных осадках озера Кугурлуй.

По итогам 240-часовых экспериментов, наиболее действующими на репродукцию *Selenastrum sp.* были донные осадки района Большой Репиды со станции 1 в концентрации 50,00 г·л⁻¹ (рис. 5). Однако в той или иной степени действующими на тест-объекты были донные осадки всех изученных проб. Острая токсичность наблюдалась для *Ch. vulgaris* в вариантах с концентрациями донных осадков — 0,78 г·л⁻¹ (ст. 2); 12,50 г·л⁻¹ и 50,00 г·л⁻¹ (ст. 4); 1,56 г·л⁻¹ и 12,50 г·л⁻¹ (ст. 1). Для *Selenastrum sp.* донные осадки остротоксичными не являлись. Токсическими концентрациями были 0,78 г·л⁻¹ (ст. 46) и 50,00 г·л⁻¹ (ст. 1).

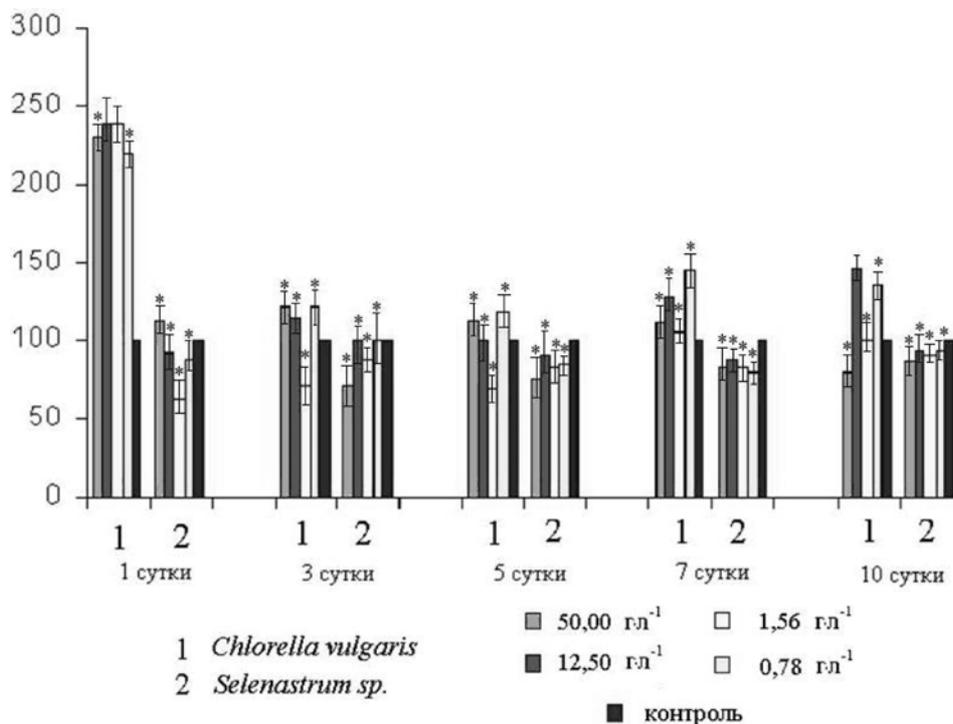


Рис. 4. Влияние различных концентраций донных осадков оз. Кугурлуй (ст. 3) на численность зеленых водорослей *Chlorella vulgaris* и *Selenastrum sp.*

Примечание: * — отличия значений экспериментальных вариантов в сравнении с соответствующими контрольными вариантами достоверны при $p < 0.05$

По оси ординат — численность клеток водоросли в % от контроля; По оси абсцисс — длительность эксперимента, сутки

В целом действие исследованных донных осадков можно охарактеризовать как хроническое. Хроническая токсичность — повсеместно распространенное явление для донных отложений русловой части р. Дунай и озерных площадок. Места пробоотбора, расположенные в районах интенсивной хозяйственной деятельности (фермы, каналы), относятся к местам с высоким содержанием биологически активных веществ.

Полученные данные согласуются с общими закономерностями, установленными рядом исследователей [7] при изучении токсичности донных отложений озера Кугурлуй, других придунайских озер, а также природного водоема Южного региона — Днестровского лимана, и водохранилищ Ивановского, Коминтерновского и Березовского районов.

Таким образом, результаты проведенных исследований не вызывают сомнения в том, что экосистема озера Кугурлуй испытывает значительную антропогенную нагрузку.

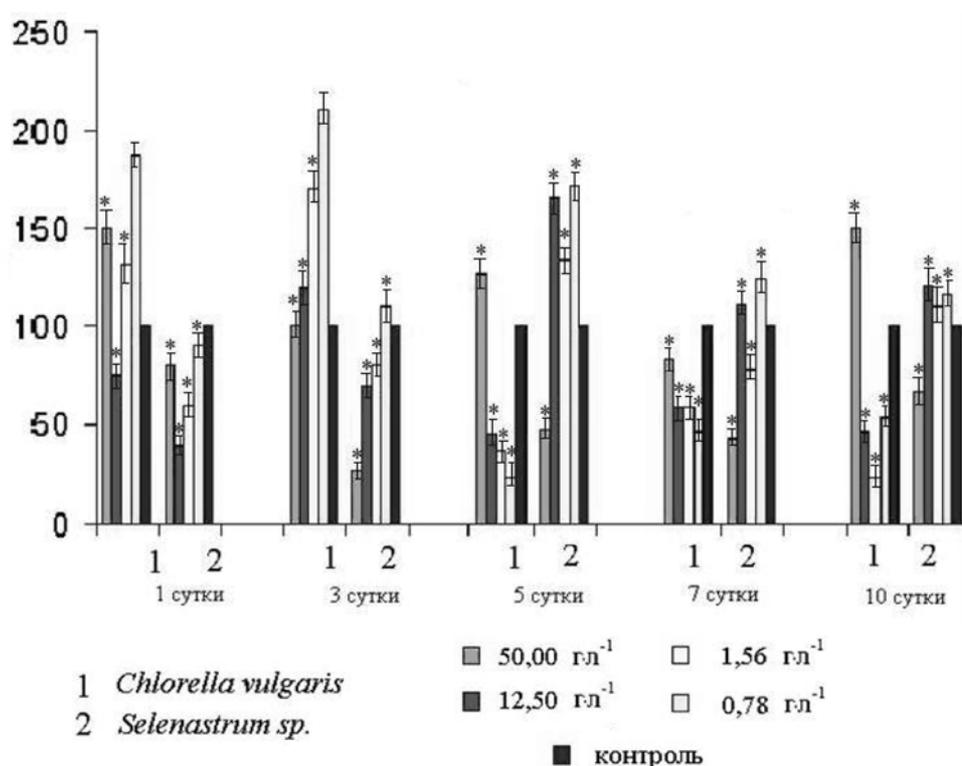


Рис. 5. Влияние различных концентраций экстрактов донных осадков оз. Кугурлуй (ст. 1) на численность зеленых водорослей *Chlorella vulgaris* и *Selenastrum sp.*

Примечание: * — отличия значений экспериментальных вариантов в сравнении с соответствующими контрольными вариантами достоверны при $p < 0.05$

По оси ординат — численность клеток водоросли в % от контроля; По оси абсцисс — длительность эксперимента, сутки

Различные виды фитопланктона имеют различную чувствительность к токсическим веществам донных отложений. Выявленные закономерности указывают на зависимость негативных эффектов экосистем от степени загрязнения донных осадков.

Авторы искренне признательны зав. кафедр. д. б. н., доц. Замонову В. В. за организацию полевых исследований, к. б. н., доц. Джуртубаеву М. М. за помощь в сборе материала, д. б. н., проф. Александрову Б. Г. — за предоставленные культуры водорослей.

Выводы

1. Наиболее токсичными являются донные осадки со станций 2 и 4, наименее токсичными — района канала Скунда (ст. 3).
2. Зеленые водоросли *Ch. vulgaris* и *Selenastrum sp.* имеют различную чувствительность к влиянию загрязняющих веществ,

содержащихся в донных отложениях озера Кугурлуй. Более чувствительной является *Ch. vulgaris*.

3. Действие донных отложений озера Кугурлуй на тест-объекты носит хронический характер.

Литература

1. Количественные показатели и распространение мутагенного потенциала в придунайских озерах / Т. В. Васильева, В. И. Мединец, И. Ю. Васильева, Н. Н. Панченко, О. А. Ковтун, Я. И. Ляликов // Вісник Одеського національного університету. — 2002. — Т. 7, вип. 2. — С. 54–61.
2. Горіан П., Мединец В. И. Интегральный экологический мониторинг придунайских озер и бассейна их водосбора: стратегия, программа и методология // Наукові записки. Серія: Біологія. Спеціальний випуск: Гідроекологія. Тернопільський педуніверситет ім В. Гнатюка. — 2001. — Т. 4 (14). — С. 207–209.
3. Дятлов С. В. Оценка токсичности воды и донных отложений придунайских озер // Вісник Одеськ. націон. ун-ту. — 2002. — Т. 7, вип. 2. — С. 44–53.
4. Брагинский Л. П., Щербань Э. П. Биологическое тестирование токсичности воды Килийского рукава // Гидробиология Дуная и лиманов северо-западного причерноморья. — К.: Наук. думка, 1986. — С. 119–133.
5. Щербань Э. П. Экспериментальная оценка токсичности дунайской воды для // Гидробиол. журн. — 1982. — Т. 18. — № 2. — С. 82–88.
6. Килийская часть дельты Дуная весной 2000 г. Состояние экосистемы и последствия техногенных катастроф в бассейне / Под ред. Б. Г. Александрова, НАН Украины, Одесский филиал Ин-та биол. южн. морей. — О., 2001. — 128 с.
7. Васильова Н. Ю., Панченко Н. Н., Васильова Т. В. Комплексний мікробіологічний контроль вод полігону "Балай" // Вісник Одеського національного університету. — 2001. — Т. 6, вип. 1. — С. 111–116.
8. Исследования токсических веществ в экосистемах придунайских озер / В. М. Мединец, Ю. М. Деньга, В.А. Воробьев и др. // Наукові записки. Серія: Біологія. Спеціальний випуск гідроекологія. Тернопільський педуніверситет ім. В. Гнатюка. — 2001. — Т. 4 (14). — С. 213–214.
9. Результаты гидроэкологических исследований придунайских озер весной и летом 2002 г / В. М. Мединец, Т. В. Васильева, Е. И. Газетов и др. // Наукові записки. Серія: Біологія. Спеціальний випуск гідроекологія. Тернопільський педуніверситет ім. В. Гнатюка. — 2001. — Т. 4 (14). — С. 77–75.
10. Руководство по методам биологического анализа морской воды и донных отложений // Под. ред. А. В. Цыбань. — Л.: Гидрометеиздат, 1980. — 192 с.
11. Айвазова Л. Е., Старцева А. И., Цвылев О. П. Метод биотестирования водной среды с использованием одноклеточных водорослей // Методы биотестирования вод / Ред. А. Н. Крайнюкова. — Черноголовка, 1988. — С. 18–21.
12. Ланская Л. Д. Культивирование водорослей // Экологическая физиология морских планктонных водорослей. — К.: Наук. думка, 1971. — С. 5–21.
13. Методика получения водных вытяжек из донных отложений для биотестирования / Э. П. Щербань, О. М. Арсан, Т. Н. Шаповал, А. М. Цветкова, Ю. К. Пицолка, И. Г. Кукля // Гидробиол. журнал. — 1994. — Т. 30. — № 4. — С. 100–111.
14. Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. — 352 с.
15. Гаркавая Г. П., Багатова Ю. И., Берлинский Н. А. Особенности формирования гидрохимических условий Украинской части устьевой зоны Дуная // Экосистема взморья украинской дельты Дуная. — Одесса: Астропринт, 1998. — С. 21–62.
16. Гаркавая Г. П., Багатова Ю. И. Загальна гідрохімічна характеристика української частини дельти Дунаю // Біорізноманітність Дунайського біосферного заповідника, збереження та управління. — К.: Наук. думка, 1999. — С. 32–36.

**О. А. Семенова, В. Л. Базелян, Г. Ю. Коломейченко,
Абдул Манаф Юссеф**

Одеський національний університет,
кафедра гідробіології та загальної екології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна. Тел.: (0482) 68-77-93

ТОКСИЧНІСТЬ ДОННИХ ВІДКЛАДЕНЬ ОЗЕРА КУГУРЛУЙ ДЛЯ РІЗНИХ ВИДІВ ПРІСНОВОДНИХ ВОДОРОСТЕЙ

Резюме

Проведено біотестування токсичності донних відкладень озера Кугурлуй для різних видів прісноводних водоростей. Встановлено, що різні види зелених прісноводних водоростей мають неоднакову чутливість до забруднюючих речовин, акумульованих у донних відкладеннях. Токсичні донні відкладення виявляють негативний вплив на екологічну ситуацію у водоймищі. Дія донних відкладень на флору озера Кугурлуй має хронічний характер.

Ключові слова: донні відкладення, водорості, біотестування, токсичність.

O. A. Semenova, V. L. Baselyan, G. J. Kolomeichenko, A. M. Yusef

Odessa National University after I.I. Mechnikov,
Department of Hydrobiology and General Ecology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine. Tel.: (0482) 68-77-93

COMPARATIVE TOXICITY ASSESSMENT IN BOTTOM SEDIMENTS OF THE LAKE KUGURLUI FOR DIFFERENT FRESHWATER SEAWEED SPECIES

Summary

The bioassays of the bottom sediments from the Lake Kugurlui is carried out for different species of green freshwater seaweed. It was found out that different species of green freshwater seaweed had different tact for bottom sediments toxicity. Bottom sediments toxicity has a negative influence on the ecological situation of the lake.

Keywords: bottom sediments, bioassay, seaweed, toxicity.

ГЕНЕТИКА І ЦИТОЛОГІЯ



УДК 575.1:595.773.4

С. В. Белоконь, ст. инж.,

В. Н. Тоцкий, д-р биол. наук, профессор, зав. каф.

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

КОАДАПТАЦИЯ ГЕНОВ ЛОКУСОВ *cn*, *vg* И *Adh* КАК МЕХАНИЗМ АДАПТАЦИИ МУТАНТОВ *D. melanogaster* Meig.

Изучали степень коадаптированности мутантных генов *cn* и *vg* с аллельными генами локуса *Adh* и влияние мутаций *cn* и *vg*, находящихся в разном генотипическом окружении, на функциональное состояние этого локуса у *D. melanogaster*. Установлено, что в процессе онтогенетической адаптации взаимодействие локусов *vg*, *cn* и *Adh* может осуществляться путем модификации функций продуктов генов *Adh^F* и *Adh^S* под влиянием маркерных мутаций, а также выявлена коадаптированность аллельных генов локуса *Adh* и исследуемых маркерных генов.

Ключевые слова: дрозофила, мутации, локус *Adh*, сегреганты.

Известно, что плеiotропное действие морфологических мутаций, в частности мутации *vg*, по-разному проявляется в отношении отдельных компонентов приспособленности при изменяющихся условиях окружающей среды и различных состояниях процессов метаболизма.

В связи с этим актуальным остается вопрос о механизмах плеiotропного действия морфологических мутаций, в частности мутаций *cn* и *vg*. Обе мутации, в особенности мутация *vg*, имеют отношение к индивидуальному развитию дрозофилы, к процессам дифференцировки клеток и органогенеза. Мутацию *vg*, нарушающую развитие крыла, можно рассматривать как мутацию одного из многочисленных гомеозисных генов, отвечающих за морфогенез. Известно, что гомеозисные гены кодируют факторы транскрипции, необходимые для нормальной функции многих структурных генов, обеспечивающих синтез ферментов метаболизма и, возможно, факторов регуляции для других генов. Таким образом, плеiotропное действие мутации *vg* можно рассматривать как результат влияния мутировавшего гомеозисного гена на функцию структурных генов, обеспечивающих метаболизм. В этом случае следует ожидать определенного взаимодействия гена *vg* с аллельными генами локуса *Adh*, поскольку алкогольдегидрогеназа — важнейший участник энергетического обмена у *D. melanogaster*.

В соответствии с вышеизложенным, целью данной работы было изучение степени коадаптированности у *D. melanogaster* мутант-

ных генов *cn* и *vg* с аллельными генами локуса *Adh* и выяснение влияния мутаций *cn* и *vg*, находящихся в разном генотипическом окружении, на функциональное состояние этого локуса.

Материалы и методы исследований

Материалом для исследований служила *Drosophila melanogaster*. В опытах использовали мух диких линий C-S и D, мутантов *cn* (*cinnabar*), *vg* (*vestigial*), сегрегантов гибридных популяций *vg* × *cn*, а также мутантные формы мух, полученные в результате насыщающих скрещиваний, а именно: *cn*(C-S), *vg*(C-S), *cn*(D), *vg*(D). При этом в скобках указана генотипическая среда, в которую помещались гены *cn* и *vg*.

Замещение генотипов путем насыщающих скрещиваний проводили по схеме [1] в условиях направленного отбора на маркерную мутацию в 20-ти поколениях. Таким образом, были получены экспериментальные формы дрозофилы, маркированные по локусам *cn* или *vg*, но с генотипами мух дикого типа (C-S и D).

О степени замещения генотипов судили по частоте аллельных вариантов гена *Adh*, локализованного, как и маркерные гены, в хромосоме 2 дрозофилы. Для определения аллельных вариантов локуса *Adh* в процессе насыщающих скрещиваний индивидуальному электрофоретическому анализу подвергали всех особей, имеющих фенотипические проявления признаков *cn* и *vg* в разных поколениях беккроссов — F_{B5} , F_{B10} , F_{B15} , F_{B20} .

Определение электрофоретической подвижности АДГ проводили в пластинах 7,5%-ного полиакриламидного геля стандартным методом с использованием трис-глицинового буфера рН 8,3 [2].

Активность АДГ в экстрактах тканей дрозофилы определяли спектрофотометрически на СФ-26 стандартным методом [3].

Термостабильность АДГ оценивали по остаточной активности фермента после прогревания экстрактов тканей мух в водном термостате при 40°C на протяжении 5 мин и выражали в процентах отношении ферментативной активности прогретого и исходного экстрактов [4].

Равновесность по сцеплению генов локусов *cn*, *vg* и *Adh* определяли в отдельной серии опытов, в которой 5 ♀ *vg* скрещивали с 5 ♂ линии *cn*. Соотношение аллельных генов *Adh^F* и *Adh^S* было равным. Поколение F_1 этой баночной популяции представлено гетерозиготами и имело дикий фенотип. 10 ♀ и 10 ♂ этого поколения скрещивали между собой для получения потомков F_2 . Среди последних отбирали сегрегантов с фенотипами *cn* и *vg* (их обозначали как *cn'* и *vg'*) и часть из них (20 сегрегантов *cn'* и 20 сегрегантов *vg'* — по 10 самок и самцов) исследовали электрофоретически на аллозимный состав АДГ. Остальных мух популяции размножали до достижения ими поколения F_6 . Среди потомков F_6 отбирали 20 сегрегантов *cn'* и 20 сегрегантов *vg'* (самцов и самок поровну)

и электрофоретически определяли аллельный состав локуса *Adh*. По результатам электрофореза у анализируемых мух поколений F_2 и F_6 определяли количество гомозигот и гетерозигот по локусу *Adh*, а также соотношение частот аллелей Adh^S и Adh^F у сегрегантов cn' и vg' . Повторность опыта — десятикратная. Основываясь на результатах этих опытов, оценивали частоту попадания в одну гамету генов cn и Adh^S , а также vg и Adh^F с целью определения степени равновесности по сцеплению этих генов.

Математическую обработку полученных результатов производили общепринятыми методами вариационной статистики по Стьюденту [5].

Результаты исследований и их анализ

Изучение функционального состояния ген-энзимной системы алкогольдегидрогеназы (АДГ) (определение электрофоретической подвижности, активности и термостабильности фермента) может представить полезную информацию о взаимодействии исследуемых генов и о модификации этих взаимодействий при изменении структуры генотипа в ходе скрещиваний. В условиях опытов ген *Adh* выступает как модельный жизненно важный структурный ген *D. melanogaster*, аллельное и функциональное состояние которого может существенно меняться при тех или иных структурных изменениях генотипа и указывать тем самым на возможное поведение генов других локусов.

У исходных линейных мух, у мутантов с замещенными генотипами, а также у сегрегантов гибридных популяций $vg \times cn$ исследовали аллельное содержание локуса *Adh*, активность и термостабильность аллозимов алкогольдегидрогеназы.

Индивидуальный электрофоретический анализ генных продуктов локуса *Adh* показал, что мухи линий C-S и cn являются гомозиготами по аллельному гену Adh^S , а мухи линий *D* и vg — гомозиготами по аллелю Adh^F . В наших опытах у потомков насыщающих скрещиваний осуществлялась постепенная смена аллельного содержания локуса *Adh* при сохранении в хромосоме 2 маркерной мутации cn или vg . Тот факт, что линейные мухи C-S и *D*, cn и vg оказались гомозиготами по разным аллельным генам локуса *Adh*, представляется весьма интересным. Известно, что в ходе филогенетической адаптации под давлением разных экологических факторов у мух осуществляется четкий естественный отбор либо *F*-аллеля, либо *S*-аллеля *Adh* [6; 7]. Вероятно, такой отбор происходит и по аллельным генам других локусов, что приводит в конечном итоге к формированию у особей популяции постулированных одним из нас компенсационных комплексов генов [8]. Возможно, в силу именно таких причин сформировались генотипы дрозофилы, гомозиготные по *S*- и *F*-аллелям *Adh* и определенным рецессивным морфологическим мутациям. Результаты исследований пока-

зали, что при насыщающих скрещиваниях мутантов *cn* и *vg* с мухами дикого генотипа C-S и *D*, расхождение по разным гаметам генов *cn* и *Adh^S*, равно как и генов *vg* и *Adh^F*, осуществляется с некоторым трудом, несмотря на довольно значительное (16,9 сМ) расстояние между локусами *vg* и локусом *Adh* на генетической карте. О замедленном расхождении мутантных генов *cn* и *vg* с "обычными" для них аллелями локуса *Adh* свидетельствует то, что лишь к 15-20 поколениям насыщающих скрещиваний C-S × *vg* и *D* × *cn* наблюдалось полное замещение аллеля *Adh^F* на аллель *Adh^S* у мутантов *vg* и *Adh^S* на *Adh^F* у мутанта *cn* (табл.1).

Таблица 1

Динамика частоты аллельных вариантов *Adh* в процессе насыщения мутантных генотипов генами линий дикого типа

n = 30–50

Исследуемые формы	Поколение беккрасса (F _B)	Частота генотипических классов		
		<i>Adh^F/Adh^F</i>	<i>Adh^F/Adh^S</i>	<i>Adh^S/Adh^S</i>
<i>vg</i> (C-S)	5	0,28 ± 0,08	0,52 ± 0,09	0,20 ± 0,07
	10	0,15 ± 0,06	0,48 ± 0,09	0,37 ± 0,09
	15	0,05 ± 0,04	0,40 ± 0,09	0,55 ± 0,09
	20	0	0	1
<i>cn</i> (D)	5	0,20 ± 0,06	0,50 ± 0,01	0,30 ± 0,08
	10	0,50 ± 0,01	0,30 ± 0,08	0,20 ± 0,06
	15	0,50 ± 0,01	0,50 ± 0,01	0
	20	1	0	0

На основании этих опытов мы пришли к выводу о коадаптированности генов *cn* и *Adh^S*; а также *vg* и *Adh^F*, т. е. об оптимальном взаимодействии этих неаллельных генов при формировании генотипом компонентов приспособленности. По-видимому, эта коадаптированность обуславливает оптимальный генный баланс и обеспечивается более частым попаданием коадаптированных аллелей разных локусов в одну гамету.

Обобщая результаты проведенных экспериментов и имеющиеся в литературе данные, следует отметить, что если филогенетическая адаптация дрозофилы к постоянно действующим факторам внешней среды осуществляется главным образом путем отбора коадаптированных к данным условиям генов, в т. ч. и различных аллелей локуса *Adh*, то онтогенетическая адаптация осуществляется

преимущественно путем регуляции функций имеющихся в генотипе аллельных и неаллельных генов. Одним из путей такой регуляции является модификация функций продуктов структурных генов применительно к конкретным условиям внешней и внутренней (генотипической) среды.

Результаты настоящих исследований свидетельствуют о том, что свойства продуктов аллельных генов локуса *Adh* могут существенно изменяться в зависимости от генного окружения этого локуса. Так, например, есть основания утверждать, что в условиях насыщающих скрещиваний $D \times cn$ наиболее вероятна модификация на эпигенетическом уровне аллозима Adh^F под влиянием мутантного гена *cn*. Не исключено, что мутантный ген *cn*, на который вели отбор потомков насыщающих скрещиваний, в силу плейотропного действия мог выступать геном-модификатором F-аллозима АДГ. Именно к такому выводу пришли В. Н. Тоцкий, Л. В. Левчук и другие авторы [9; 10].

Как известно, коадаптированные гены могут чаще попадать в одну гамету, чем следует ожидать на основании теории вероятности и законов независимого или сцепленного наследования. Такого рода особенности процессов наследования известны под названием ассоциированности признаков и свойств, а совокупность генов, наиболее часто попадающих в одну гамету, составляют так называемый гаплотип [11].

Вероятность такого более частого совместного наследования определенных аллелей локусов *cn*, *vg* и *Adh* демонстрируют результаты исследований, представленные в табл. 2.

Как уже указывалось, суть этих исследований состояла в том, что у мух исходных мутантных линий *cn* и *vg*, а также у их гибридных потомков с фенотипами *cn* и *vg* электрофоретически определяли частоту встречаемости аллельных генов Adh^F и Adh^S . Исходную популяцию F_0 создавали из равного количества мух — основателей (самцов и самок) *cn* и *vg*, что обеспечивало практически равное соотношение в F_0 аллельных генов Adh^F и Adh^S .

У трехдневных мух первого поколения, имеющих дикий фенотип, содержание аллелей Adh^F/Adh^S также было одинаковым. В противоположность этому среди сегрегантов cn' и vg' последующих поколений по локусу *Adh* встречались генотипы разного строения — гомозиготы Adh^F/Adh^F , гетерозиготы Adh^F/Adh^S и гомозиготы Adh^S/Adh^S . При этом количественное соотношение разных в генетическом отношении гомозигот и соотношение аллельных генов Adh^F/Adh^S у сегрегантов cn' и vg' было различным. У сегрегантов cn' соотношение Adh^F/Adh^S с каждым последующим поколением уменьшалось, а у сегрегантов vg' — увеличивалось. Вследствие этого во всех поколениях у мух с фенотипом *cn* количественно преобладал S-аллель гена *Adh*, а у мух *vg*-аллель Adh^F . Даже в поколении F_6 , когда теоретически (в силу многократного кроссинговера) можно было бы ожидать значительного выравнивания у гомозигот

cn cn и *vg vg* содержания аллельных генов *Adh^S* и *Adh^F*, этого не отмечается. Оказалось, что в F_6 среди сегрегантов *cn'* гомозигот *Adh^SAdh^S* было больше, чем гомозигот *Adh^FAdh^F*. Аллельный ген *Adh^S* у них составлял 55%, а *Adh^F* — 45% общего количества генов локуса *Adh*. В противоположность этому, среди сегрегантов *vg'* было выявлено значительно больше гомозигот *Adh^FAdh^F*, чем гомозигот *Adh^SAdh^S*. Содержание аллеля *Adh^F* в этом случае составляло 58%, а *Adh^S* — 42%. Эти результаты совместно с другими данными подтверждают наше предположение о коадаптированности указанных пар неаллельных генов и об ассоциированности их наследования.

Таблица 2

Наследование аллелей *Adh^S* и *Adh^F* при скрещивании линейных мух ♀ *vg* × ♂ *cn*

n = 10

Исследуемые мухи (фенотип по признакам <i>cn</i> и <i>vg</i>)	Всего исследовано особей	Выявлено			Соотношение аллелей <i>F/S</i>
		гомозигот <i>Adh^F/Adh^F</i>	гетерозигот <i>Adh^F/Adh^S</i>	гомозигот <i>Adh^S/Adh^S</i>	
Линия <i>cn</i> (<i>cn</i> +)	10	0	0	100	0 : 1
Линия <i>vg</i> (+ <i>vg</i>)	10	10	0	0	1 : 0
Сегреганты <i>cn'</i> и <i>vg'</i> при скрещивании мутантов: (поколение F_2)					
<i>cn</i> +	20	2	16	2	0,50 : 0,50
+ <i>vg</i>	20	3	15	2	0,53 : 0,47
Сегреганты <i>cn'</i> и <i>vg'</i> при скрещивании мутантов: (поколение F_6)					
<i>cn</i> +	20	4	10	6	0,45 : 0,55
+ <i>vg</i>	20	11	7	2	0,58 : 0,42

Ассоциированность наследования коадаптированных генов может иметь важное значение в процессах филогенетической адаптации, способствуя формированию адаптационных [12] и компенсационных [13] комплексов генов, необходимых для оптимальной приспособленности генотипов и возникновения гетерозиса. Таким образом, установленная коадаптированность аллельных генов локуса *Adh* и определенных маркерных генов углубляет существующие представления о механизмах филогенетической и онтогенетической адаптации и намечает новые методические подходы к изучению взаимодействия генов.

Выводы

1. Полное замещение аллеля *Adh^F* на аллель *Adh^S* у мутантов *vg* и *Adh^S* на *Adh^F* у мутанта *cn* наблюдается лишь к 15–20 поколениям насыщающих скрещиваний *C-S* × *vg* и *D* × *cn*.
2. Гены *cn* и *Adh^S*, а также гены *vg* и *Adh^F* чаще, чем другие возможные варианты аллелей, попадают в одну гамету. Этот факт, по-видимому, объясняет гомозиготность мух *cn* по гену *Adh^S*, а мух *vg* — по гену *Adh^F*.
3. Полученные результаты свидетельствуют о коадаптированности генов *cn* и *Adh^S*, а также *vg* и *Adh^F*. Эта коадаптированность определяется неравновесностью по сцеплению этих генов, а также модификацией продуктов аллельных генов локуса *Adh* у мутантов *cn* и *vg* при конкретных условиях генотипической среды.

Литература

1. Никоро З. С., Васильева Л. А. Проблема изменчивости и отбора по количественным признакам на примере популяции *Drosophila* // Дрозофила в экспериментальной генетике. — Новосибирск, Наука, 1978. — С. 196–243.
2. Ornstein L. Disk electrophoresis. I. Background and theory // Ann. N. Y. Acad. Sci. USA. — 1964. — Vol. 121. — P. 321–349.
3. McKechnie S. W., Geer B. W. // Insect. Biochem. — 1984. — 14, N 2. — P. 231–242.
4. Chambers O. K., Wilks A. V., Gibson J. B. // Biochem. Genet. — 1984. — 22, N 1–2. — P. 153–168.
5. Плохинский Н. А. Алгоритмы биометрии. — М.: Изд-во МГУ, 1980. — 150 с.
6. Хаустова Н. Д. Локус *Adh* *Drosophila melanogaster* в условиях отбора на задержку старения // Генетика. — 1995. — Т. 31. — № 5. — С. 646–651.
7. Анализ генетической структуры природных популяций дрозофилы, обитающих в районах Беларуси с повышенным радиационным фоном / С. И. Касинская, М. Е. Михайлова, Н. И. Тиханович, Н. А. Камыш // Гигиена населенных мест. — 2000. — Вып. 36. — Ч. II. — С. 64–72.
8. Генетико-биохимические механизмы онтогенетической и филогенетической адаптации / В. Н. Тоцкий, Н. Д. Хаустова, Н. М. Алшибли, А. Л. Сечняк // Цитология и генетика. — 2002. — Т. 36, № 3. — С. 69–75.
9. Ген-энзимная система алкогольдегидрогеназы при изменениях генотипа у *Drosophila melanogaster* / В. Н. Тоцкий, Н. Д. Хаустова, С. В. Моргун, Л. В. Левчук // Укр. биохим. журн. — 1998. — Т. 70, № 5. — С. 42–51.
10. Хаустова Н. Д., Моргун С. В. Ген-энзимная система АДГ и приспособленность мутантов *Drosophila melanogaster* // Генетика. — 1999. — Т. 35, № 5. — С. 600–605.
11. Патрушев Л. И. Экспрессия генов. — М.: Наука, 2000. — С. 532–534.
12. Тоцкий В. М., Хаустова Н. Д. Ген-энзимна система алкогольдегидрогенази і адаптивна здатність *Drosophila melanogaster* // Укр. биохим. журн. — 1996. — Т. 68, № 3. — С. 62–68.
13. Струнников В. А., Маресин В. М., Степанова Н. Л. Селекция *Drosophila melanogaster* на комбинационную способность // Цитология и генетика. — 1986. — Т. 20, № 1. — С. 3–10.

С. В. Білоконь, В. М. Тоцький

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

**КОАДАПТАЦІЯ ГЕНІВ ЛОКУСІВ *cn*, *vg* І *Adh* ЯК МЕХАНІЗМ
АДАПТАЦІЇ МУТАНТІВ *D. melanogaster* Meig.**

Резюме

Вивчали ступінь коадаптованості генів мутантів *cn* і *vg* з алельними генами локусу *Adh* і вплив мутацій *cn* та *vg*, що знаходяться в різному генотиповому оточенні, на функціональний стан локусу *Adh* у *D. melanogaster*. Встановлено, що в процесі онтогенетичної адаптації взаємодія локусів *vg*, *cn* і *Adh* може здійснюватися модифікацією функцій продуктів генів *Adh^F* і *Adh^S* під впливом маркерних мутацій, а також виявлена нерівноважність по зчепленню алельних генів локусу *Adh* і досліджуваних маркерних генів.

Ключові слова: дрозофіла, мутації, локус *Adh*, коадаптація.

S. V. Belokon, V. N. Totsky

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

**LOCUSES GENES COADAPTATION *cn*, *vg* AND *Adh* AS THE
MECHANISM OF ADAPTATION OF MUTANTS OF *D. melanogaster*
Meig.**

Summary

The degree of coadaptation of mutants genes of *cn* and *vg* with the allelic genes of locus *Adh* and influence of mutations of *cn* and *vg*, having different genotypic surroundings, on the functional state of locus *Adh* at *D. melanogaster* were studied. It is proved that in the process of ontogenetic adaptation interaction of locuses *vg*, *cn* and *Adh* the modification of functions of genes products of *ADHF* and *ADHS* under the influence of the markers mutations can be realized, and the allelic genes locuses *Adh* coadaptation and explored markers genes are also exposed.

Keywords: drosophila, mutations, locus *Adh*, coadaptation.

УДК 577.222:595

С. В. Белоконь, ст. инж., **Н. Д. Хаустова**, канд. биол. наук, доц.,
И. А. Бондаренко, студ.

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

ПРИСПОСОБЛЕННОСТЬ МУТАНТОВ *cn* И *vg* В ЛАБОРАТОРНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ *Drosophila melanogaster*

Изучали приспособленность мутантов *cinnabar (cn)* и *vestigial (vg)* в линейных и гибридных лабораторных популяциях *Drosophila melanogaster*. Об относительной (дарвиновской) приспособленности судили по эффективности размножения мух в экспериментальных популяциях *cn* × *vg*. Для определения отдельных компонент приспособленности исследовали плодовитость и жизнеспособность (продолжительность жизни, устойчивость к голоданию) у линейных мутантов и их гибридов. Установили, что отбор действует против мутантов *vg*, которые уступают мутантам *cn* и гибридам по основным показателям приспособленности, кроме устойчивости к голоданию.

Ключевые слова: приспособленность, популяция, дрозофила, мутации.

Изучение роли морфологических мутаций в формировании приспособленности особей занимает значительное место в исследованиях по генетике дрозофилы. Широко известен плейотропный эффект мутации *vg* [1, 2], в то же время установлено её неоднозначное влияние на выживаемость и плодовитость разных линий дрозофилы, мутантных по маркерному гену [4, 3]. Показано, что сочетание в генотипе особей маркерной мутации *vg* с некоторыми другими мутациями хромосомы 2 (*b*, *cn*) приводит к повышению приспособленности мутантов по большинству исследованных показателей [5, 6].

Для выяснения механизмов приспособленности необходимо комплексное изучение составляющих её компонент, а также эффективности размножения (относительной приспособленности), которая является количественной мерой естественного отбора.

В соответствии с вышеизложенным целью данной работы было установление связи между проявлениями приспособленности (жизнеспособностью, плодовитостью) мутантов *cn* и *vg* и эффективностью их размножения в экспериментальных популяциях дрозофилы.

Материалы и методы исследований

Материалом для исследований служила *Drosophila melanogaster*. В опытах использовали мутантов *cn (cinnabar)*, *vg (vestigial)* и реципрокных гибридов *cn* × *vg*.

Исходные популяции (F_0) создавали в пробирках (20 мл) в соотношении генотипов 1:2:1 ($1\text{♀} \frac{cn+}{cn+}$; $1\text{♂} \frac{cn+}{cn+}$; $2\text{♀} \frac{cn+}{+vg}$; $2\text{♂} \frac{cn+}{+vg}$; $1\text{♀} \frac{+vg}{+vg}$; $1\text{♂} \frac{+vg}{+vg}$). Всех потомков (F_1) из каждой пробирки переносили в большие по размеру сосуды (200 мл) для получения F_2 .

Всех мух из F_1 и F_2 каждой баночной популяции (повторность опыта десятикратная) анализировали по маркерным признакам и определяли фенотипический состав экспериментальных популяций.

Относительную приспособленность мутантов (w) и коэффициент отбора ($s = 1 - w$) определяли общепринятым методом [7], для чего вычисляли среднее количество потомков F_2 , приходящихся на одну особь соответствующего класса из F_1 . За единицу приспособленности ($w = 1$) принимали эффективность размножения в каждой популяции генотипов, оставляющих максимальное количество потомков.

Реальную плодовитость мух определяли по числу потомков (имаго) одной пары, содержащейся в пробирке (20 мл) на протяжении 3-х дней [8].

Продолжительность жизни мух на стандартной среде определяли, помещая в пробирки с кормом 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_{t50}) [9].

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

Математическую обработку полученных результатов производили общепринятыми методами вариационной статистики по Стьюденту [10].

Достоверность совпадения экспериментально полученных и теоретически ожидаемых расщеплений в F_2 оценивали по методу χ^2 [10].

Результаты исследований и их обсуждение

Анализируя фенотипический состав исследуемых популяций дрозофилы на протяжении двух поколений (табл. 1), установили, что в F_1 соотношение фенотипов не отклонялось от исходного (F_0), но уже в F_2 ожидаемое расщепление 1:2:1 нарушилось в пользу классов cn и $++$, что свидетельствует о меньшей приспособленности мух из класса vg .

Таблица 1

Соотношение фенотипических классов в F₁ и F₂ исследуемых популяций дрозофилы

n = 10

Фенотипические классы	Генотипический состав	Количество потомков	
		F ₁	F ₂
+ <i>vg</i>	$\frac{+vg}{+vg}; \frac{+vg}{cnvg}$	118	438
++	$\frac{cn+}{+vg}; \frac{++}{+vg}; \frac{++}{cn+}$	272	1348
<i>cn</i> +	$\frac{cn+}{cn+}; \frac{cn+}{cnvg}$	143	742
χ^2 для ожидаемого расщепления 1:2:1		2,57	84,28*

Примечание: * Отклонение от теоретически ожидаемого расщепления достоверно ($p < 0,05$).

Результаты расчета эффективности размножения (табл. 2) свидетельствуют о высокой приспособленности мутантов *cn* $\left(\frac{cn+}{cn+}; \frac{cn+}{cnvg}\right)$ и гибридов ++ $\left(\frac{cn+}{+vg}; \frac{++}{+vg}; \frac{++}{cn+}\right)$. Их относительная приспособленность (*w*) составляет 100 и 98% соответственно, практически вдвое превышая этот показатель у мутантов *vg* (51%).

Таблица 2

Относительная приспособленность (*w*) и коэффициент отбора (*s*) мутантов и мух дикого типа из экспериментальных популяций

n = 10

Показатели	Фенотипические классы		
	++	+ <i>vg</i>	<i>cn</i> +
<i>w</i>	0,81 ± 0,09*	0,42 ± 0,08	0,83 ± 0,12*
<i>s</i>	0,19	0,58	0,17

Примечание: * Различия по сравнению с классом + *vg* достоверны.

Поскольку эффективность размножения зависит от генотипического разнообразия, репродуктивной активности и жизнеспособности особей, входящих в состав популяции, представляется интересным анализ отдельных компонент приспособленности у разных генотипов — гомо- и гетерозигот по маркерным генам. С этой целью изучали плодовитость и продолжительность жизни мутантов *cn*, *vg* и их гибридов при разных условиях содержания (табл. 3).

Таблица 3

Компоненты приспособленности линейных мух и их гибридов

n = 10

Линии и гибриды	Плодовитость	Продолжительность жизни (Lt_{50})	
		на стандартной среде, дни	при голодании, часы
<i>cn</i>	57,87 ± 6,80*	10,50 ± 1,00*	35,63 ± 2,97
<i>vg</i>	19,22 ± 2,20 [#]	7,67 ± 0,71 [#]	40,00 ± 1,49
<i>cn</i> × <i>vg</i>	57,09 ± 4,19*	11,75 ± 0,59*	45,00 ± 1,01* [±]
<i>vg</i> × <i>cn</i>	62,80 ± 4,09*	12,05 ± 0,55*	42,14 ± 1,04 [±]

Примечание: * Различия достоверны по сравнению с линией *vg*.

[#] Различия достоверны по сравнению с линией *cn*.

Сравнительная оценка состояния компонент приспособленности у линейных мутантов подтвердила плейотропный эффект мутации *vg*. Мутанты *vg* обладали низкой плодовитостью и продолжительностью жизни, значения которых соответственно составили 33% и 73% от этих же показателей у мутантов *cn*. В то же время низкоприспособленные мутанты *vg* проявили достаточно высокую устойчивость к голоданию, что свидетельствует об экономном расходовании энергетических ресурсов в отсутствие питания.

Факт высокой выживаемости мутантов в условиях голодания может быть одной из причин сохранения гена *vg* в природных популяциях дрозофилы, несмотря на его плейотропный эффект, сопровождающийся уменьшением приспособленности в стандартных условиях существования.

Генетический полиморфизм популяций поддерживается с помощью разных механизмов, в частности за счет сохранения гетерозигот. Широко известный эффект гетерозиса, проявляющийся у некоторых гетерозигот, объясняет возможное преимущество гибридов по сравнению с родительскими формами [11, 12, 13]. Это преимущество может проявляться по одному или по нескольким признакам. Наиболее важным с позиций приспособленности является адаптивный гетерозис, проявляющийся высокой устойчивостью гибридов к стрессовым факторам.

Для выявления возможного преимущества гетерозигот исследовали показатели приспособленности у гибридов от реципрокных скрещиваний мутантов. Как следует из данных, представленных в табл. 3, гибриды проявили высокую приспособленность по всем исследованным показателям, однако по признакам плодовитости и продолжительности жизни не отличались от "лучшего" родителя (*sp*). В то же время по адаптивно важному признаку — выживаемости в условиях голодания — гибриды *sp* × *vg* превзошли обоих родителей, каждый из которых характеризуется достаточно высоким уровнем устойчивости в условиях стресса.

Факт высокой приспособленности исследованных гетерозигот находит подтверждение при анализе экспериментальных популяций, в которых класс гибридов (++) представленный разными генотипами, характеризуется значительно более высокой эффективностью размножения и низким коэффициентом отбора по сравнению с мутантами *vg* (табл. 2).

В то время как коэффициент отбора определяется эффективностью размножения ($s = 1 - w$), направление отбора формируется в зависимости от суммарной приспособленности, поскольку существование организмов на разных стадиях жизненного цикла может влиять на успешность репродукции, а, значит, на эффективность размножения особей. Результаты представленного эксперимента и ранее опубликованные данные [3, 5] свидетельствуют об отрицательном влиянии мутации *vg* на приспособленность дрозофилы и о постепенной элиминации мутантов *vg* в экспериментальных популяциях в стандартных условиях содержания мух. Установленный факт увеличения частоты гена *sp* в этих условиях согласуется с данными литературы [14] о высокой приспособленности многих мутантов по окраске глаз.

Таким образом, представленные в работе данные подтверждают существование прямой зависимости между значениями отдельных компонент приспособленности (плодовитостью, жизнеспособностью), с одной стороны, и эффективностью размножения (относительной приспособленностью) исследуемых мух в экспериментальных популяциях — с другой.

Выводы

Мутанты *vg* характеризуются низкой плодовитостью и меньшей продолжительностью жизни по сравнению с мутантами *sp*, но не уступают последним по признаку устойчивости к голоданию. Гибриды от реципрокных скрещиваний исследуемых мутантов обладают высокой приспособленностью, а по признаку выживаемости в условиях голодания проявляют гетерозис в одном из направлений скрещиваний (*sp* × *vg*). Эффективность размножения (относительная приспособленность) в экспериментальных популяциях *sp* × *vg* определяется уровнем основных компонент приспособленности анализируемых мух.

Литература

1. Williams J. A., Bell J. B., Carrol S. B. Control of *Drosophila* wing and halter development the nuclear vestigial gene product // Gene and Develop. — 1991. — Vol. 5, N 12 B. — P. 2481–2495.
2. Влияние генотипа на экспрессивность признака vestigial и степень политении хромосом *Drosophila melanogaster* Meig. / Т. В. Кирпиченко, В. Ю. Страшнюк, Л. И. Воробьева, В. Г. Шахбазов // Генетика. — 2002. — Т. 38, № 12. — С. 1621–1625.
3. Хаустова Н. Д., Тоцький В. М. Приспособованість мутантів *vg* *Drosophila melanogaster* і генетична структура штучних популяцій, що містять маркерний ген // Вісник Одеського національного університету. — 2004. — Т. 9, вип. 5. — С. 153–158.
4. Ген-энзимная система алкогольдегидрогеназы при изменениях генотипа у *Drosophila melanogaster* / В. Н. Тоцкий, Н. Д. Хаустова, С. В. Моргунов, Л. В. Левчук // Укр. биохим. журн. — 1998. — Т. 70, № 5. — С. 42–51.
5. Хаустова Н. Д., Тоцький В. М. Компоненты приспособованности мутантов *vestigial* *Drosophila melanogaster* при искусственных и естественных перестройках генотипа дрозофилы // Генетика в XXI веке: современное состояние и перспективы развития (Москва, 6–12 июня 2004 г). Тез. докл. — М., 2004. — Т. 1. — С. 63.
6. Алибли Насер Мухамед, Хаустова Н. Д., Тоцький В. М. Приспособованность линий *Drosophila melanogaster*, мутантных по генам *b*, *cn* и *vg* // Вісник Одеського національного університету. — 2002. — Т. 7, вип. 1. — С. 63–68.
7. Айала Ф., Кайгер Д. Современная генетика. — М.: Мир, 1987. — Т. 3. — 335 с.
8. Хаустова Н. Д. Локус *Adh* *Drosophila melanogaster* в условиях отбора на задержку старения // Генетика. — 1995. — Т. 31, № 5. — С. 646–651.
9. Dorado D., Barbancho M. Differential responses in *Drosophila melanogaster* to environmental ethanol: modification of fitness components at *Adh* locus // Heredity. — 1984. — Vol. 53, N 2. — P. 309–320.
10. Плохинский Н. А. Алгоритмы биометрии. — М.: Изд-во МГУ, 1980. — 150 с.
11. Тоцький В. М. Генетика. — О.: Астропринт, 2002. — 709 с.
12. 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.
13. 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.
14. Najera C., Menzua S. L. Effect of alcohol and competition levels on viability of eye color mutants of *Drosophila melanogaster* // Gen., selec., evol. — 1985. — Vol. 17, N 3. — P. 331–340.

С. В. Білоконь, Н. Д. Хаустова, І. А. Бондаренко

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

ПРИСПОСОВАНІСТЬ МУТАНТІВ *cn* ТА *vg* В ЛАБОРАТОРНИХ ПОПУЛЯЦІЯХ *Drosophila melanogaster*

Резюме

Досліджували приспособованість мутантів *cinnabar* (*cn*) і *vestigial* (*vg*) *Drosophila melanogaster*. Відносну (дарвінівську) приспособованість визначали за ефективністю розмноження мух у штучних популяціях *cn* × *vg*. У якості окремих компонент приспособованості вивчали плодючість та життєздатність лінійних мух і їх гібридів. Вста-

новлено, що добір діє проти мутантів *vg*, котрі поступаються мутантам *cn* і гібридам за основними показниками пристосованості, окрім стійкості до голодування.

Ключові слова: пристосованість, популяція, дрозофіла, мутації.

S. V. Belokon, N. D. Khaustova, I. A. Bondarenko

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

**FITNESS OF MUTANTS *cn* AND *vg* IN LABORATORY
POPULATIONS *Drosophila melanogaster***

Summary

Mutants *cinnabar* (*cn*) and *vestigial* (*vg*) *Drosophila melanogaster* fitness has been studied. Relative (Darvin) fitness after efficiency of reproduction of flies has been investigated in experimental populations of *cn* × *vg*. Fecundity and viability (life-span, stability to starvation) at linear flies and their hybrids were studied in quality of separate component of fitness. It was proved that selection operates against the mutants of *vg* yielded to the mutants *cn* and the hybrids on the basic indexes of fitness, except the stability to starvation.

Keywords: fitness, population, *Drosophila*, mutants.

УДК 575.116:633.1

В. А. Топтіков¹, канд. біол. наук, ст. наук. співроб., **Л. Ф. Дьяченко**¹, канд. біол. наук, пров. наук. співроб., **В. М. Тоцький**¹, д-р біол. наук, проф., зав. каф., **Л. Т. Бабаянц**², канд. біол. наук, гол. наук. співроб.

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

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

СТАН ГЕН-ЕНЗИМНИХ СИСТЕМ ПАРОСТКІВ ПШЕНИЦІ ЗА УРАЖЕННЯ ЇХ ЗБУДНИКОМ БУРОЇ ЛИСТОВОЇ ІРЖІ

Проведено ген-ензимне тестування ліній озимої м'якої пшениці, що містять інтрогресовані гени стійкості від *Aegilops cylindrica*, *Triticum dicoccoides* і *Triticum erebuni*, шляхом вивчення особливостей спектрів пероксидаз, фенолоксидаз, супероксиддисмутази та естерази. З'ясовано, що взаємодія рослини-хазяїна з мікопатогеном призводить до змін експресивності ген-ензимних систем, що забезпечують процеси загального метаболізму. Зміни функціонування досліджуваних ферментів, які відбуваються на інфекційному фоні в стійких та сприйнятливих до іржі генотипах, мають в цілому протилежну спрямованість. По деяких кількісних показниках спектрів досліджуваних ферментів спостерігаються достовірні корелятивні зв'язки з рівнем стійкості рослин до захворювання. Встановлено, що генетичні системи резистентних рослин забезпечують більшу лабільність та реактивність ген-ензимних систем з одночасним збереженням їх функціонування на визначеному рівні. Досліджувані ферменти можуть бути використані для розробки тест-систем оцінки та прогнозування резистентності озимої м'якої пшениці до бурої листової іржі.

Ключові слова: пшениця, резистентність, бура листова іржа, множинні молекулярні форми ферментів, взаємодія генів, ген-ензимна система.

Створення сортів пшениці, стійких до захворювань, бурої листової іржі зокрема, є дуже актуальним. Зазначена хвороба спричиняє в Україні значні збитки [1]. Успішна селекційна робота залежить з одного боку від наявності та підбору вихідного матеріалу з високоефективними генами резистентності, з другого боку — від надійних тест-систем на стійкість до мікопатогенів. Серед таких тест-систем особливу роль грають ті, що мають прогностичне значення. Перспективними є тест-системи, засновані на аналізі загальноклітинних ферментів, оксидоредуктаз зокрема [2–7]. В попередніх наших дослідженнях було показано, що електрофоретичні спектри деяких оксидоредуктаз та гідролаз відрізняються у різних за рези-

стентністю до мікопатогенів генотипів [8–11]. Однак, зазначена закономірність не є абсолютною. В зв'язку з цим виникає необхідність подальшого пошуку тест-систем, що ґрунтуються на аналізі ген-ензимних систем рослини.

Мета роботи — провести порівняльний аналіз змін експресивності досліджуваних ферментних систем, що спостерігаються у резистентних та сприйнятливих рослин. Основний принцип аналізу полягає у визначенні змін показників спектрів ферментів рослин після їх інфікування у порівнянні з показниками контрольних рослин, яких вирощували за нормальних умов. Роботу виконували за планом договірної бюджетної теми (держбюджет, № держреєстрації 0104U01083, код КПКВ 2201030 "Надання грантів Фондом фундаментальних досліджень", КЕКВ 1170).

Матеріали і методи

Досліджували 17 генотипів озимої м'якої пшениці з різним рівнем стійкості до бурої листової іржі. Рослинні форми об'єднували у дві головні групи відповідно рівню їх стійкості до збудника: резистентні та дуже сприйнятливі. В свою чергу серед резистентних генотипів виділяли високостійкі та стійкі рослини (табл. 1).

Таблиця 1

Властивості досліджуваних форм озимої м'якої пшениці

Рослинна форма: лінії та сорти озимої м'якої пшениці	Рівень стійкості до збудника бурої листової іржі відповідно інтегрованої шкалі оцінки стійкості зернових колосових культур	Джерело генів резистентності до збудника бурої листової іржі
Резистентні генотипи		
<i>Високорезистентні генотипи</i>		
Лінія 5/55-91	9	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф134/04	9	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф63/04	8	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф284/04	9	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія 7/31-91	9	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф182/04	8	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф30/04	8	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф54/04	8	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф87/04	8	<i>Triticum erebuni</i>
Лінія МГ 47/61-97	9	<i>Triticum dicoccoides</i>
<i>Генотипи зі середнім рівнем резистентності</i>		
Лінія ф67/04	7	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф29/04	7	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф97/04	6	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія 41/46-95	6	<i>Triticum erebuni</i>
Високосприйнятливі генотипи		
Одеська напівкарликова	1	
Одеська 162	2	
Українка	2	

Вищезазначені лінії озимої м'якої пшениці створено у відділі фітопатології Одеського селекційно-генетичного інституту. Всі досліджувані лінії є генетично вирівняними та цитогенетично стабільними [12, 13]. Походження і схеми створення досліджуваних генотипів наведено у роботах [10–15]. Фітопатологічну оцінку провадили за загальноприйнятими методиками [16].

Зараження рослин пшениці здійснювали у лабораторних умовах. Чисту культуру моноізоляту збудника бурої листової іржі отримували загальноприйнятими засобами [16]. Рослини вирощували в оранжереї за оптимальних для цієї культури умов (фотоперіод: 16 годин — день, 8 годин — ніч; температура: 22–25°C вдень, 16–17°C вночі; відносна вологість повітря 60–80%) у пластмасових вазонах з ґрунтом до повного розгортання першого листка. Вік рослин складав приблизно десять діб. В експерименті було використано біля 20–30 рослин кожного генотипу, десять — п'ятнадцять з яких інфікували. Для цього надземну частину рослин обприскували за допомогою пульверизатора водною суспензією спор збудника — "дослід". Суспензію готували із розрахунку біля десяти спор у полі зору при малому збільшенні мікроскопа. Другу половину всіх рослин обробляли чистою водою — "контроль". Через добу з дослідних і контрольних рослин зрізали перші листки, з яких отримували екстракти.

Досліджували наступні ген-ензимні системи: пероксидаз (ПО), фенолоксидаз (ФО), супероксиддисмутаза (СОД) і естераз. Екстракцію та електрофоретичний розподіл множинних молекулярних форм (ММФ) ферментів провадили, як було вказано раніше [9]. ПО ідентифікували на електрофореграмах за [17], ФО — за [18], СОД — за [19], естеразу — за [20].

Для кількісного аналізу електрофореграм використовували комп'ютерну програму АнаИС [Поджарський, Рибалка, podzharsky@ukr.net], за допомогою якої для кожної ізоформи досліджуваного ферменту визначали коефіцієнт відносної електрофоретичної рухливості (Rf), питому вагу в загальному спектрі ферменту (%) та її активність в умовних одиницях (пікселях).

Для розрахунку амплітуди змін активності та питомої ваги ізоформ ферментів у спектрі провадили попарне зіставлення кількісних показників у контролі (нормальні умови вирощування) та досліді (на інфекційному фоні), а також використовували формули:

$$(D - K) / D \times 100\%, \quad (1)$$

де D — значення активності ізоформи у дослідних рослин, K — значення активності ізоформи у контрольних рослин;

$$D / K, \quad (2)$$

де D — значення питомої ваги ізоформи у дослідних рослин, K — значення питомої ваги ізоформи у контрольних рослин.

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

Результати досліджень та їх аналіз

В цілому склад ферментних препаратів, отриманих з інфікованих рослин, обумовлений власними рослинними компонентами, а також ферментами, які знаходяться в клітинах гриба — збудника захворювання. Тому для правильного аналізу отриманих даних важливим було визначення у спектрі ферментів інфікованих рослин того внеску, який належить клітинам патогену. Електрофоретичний аналіз ферментів зі спор збудника (дані не наведено) показав, що в рослинах, оброблених суспензією спор збудника іржі, деякі зміни електрофоретичних спектрів ферментів можуть бути обумовлені також присутністю ферментів гриба. Однак, суспензія клітин патогену, яку використовували для інфікування, була сильно розбавленою і містила незначну кількість спор збудника. Концентрація спор у суспензії для обробки рослин була у тисячі разів меншою, ніж у зразках, що використовували для електрофоретичного аналізу. Крім того, аналіз інфікованих рослин провадили через добу після обробки, тобто на ранній стадії взаємодії патогену з хазяїном, коли його міцелій ще не міг поширитися в листовій тканині. Відомо, що за розвитку захворювання бурюю листовою іржею вегетативна фаза триває 4–5 днів (до тижня), після чого настає генеративна фаза розвитку гриба [21, 22].

Враховуючи ці обставини, можна ігнорувати наявність ферментів гриба у пробах, а отримані дані трактувати як реакцію ген-ензимних систем рослини на ураження грибом.

Зміни експресивності ген-ензимної системи пероксидази, які відбуваються під впливом інфікування збудником бурюї листової іржі у рослин з різним рівнем резистентності до захворювання, наведено у табл. 2.

Дія патогену викликає загальне підвищення пероксидазної активності як у резистентних, так і у сприйнятливих сортів. Це пояснюється важливою роллю, яку грає цей фермент у захисних реакціях організму, в тому числі проти мікопатогенів [22–25]. Однак, ми не одержали підтвердження того, що зростання активності пероксидаз в тканинах стійких рослин більш значне, ніж у сприйнятливих [22]. Більш суттєве значення мають особливості перебудови всього спектра ферменту (табл. 2). У сприйнятливих рослин, незважаючи на підвищення активності окремих ізоформ ПО, достовірних змін питомої ваги кожної з них не спостерігається, тобто спектр ферменту в цілому не змінюється. У резистентних рослин, навпаки, на фоні підвищення активності найбільш повільних та рухливих форм ПО спостерігаються зміни відносних часток окремих ізоферментів у спектрі множинних форм: достовірно збільшується питома вага малорухливої фракції (Rf 0,01–0,09) та знижується відносна частка середньорухливої фракції (Rf 0,20–0,30).

Таблиця 2

Експресивність ген-ензимної системи пероксидази у різних за стійкістю до бурої листової іржі рослин після інфікування збудником

	Ізоформи, значення R_f							
	0,01–0,09	0,10	0,15	0,18	0,20 – 0,30	0,32 – 0,41	0,45 – 0,50	Всі ізоформи
<i>Зміни активності окремих множинних форм</i>								
Резистентні генотипи *	13,22±5,01 ↑ $P=0,009$	3,25±5,21 =	7,97±4,08 =	3,31±7,03 =	8,09±7,18 =	1,22±3,21 =	9,21±3,24 ↑ $P=0,012$	9,13±3,71 ↑ $P=0,025$
Сприйнятливі генотипи *	18,91±5,07 ↑ $P=0,036$	5,10±17,79 =	8,17±15,81 =	20,05±4,39 ↑ $P=0,030$	6,95±3,65 =	-3,38±10,94 =	0,03±7,10 =	11,72±0,85 ↑ $P=0,007$
P^1	=	=	=	0,050	=	=	=	=
r	=	=	=	=	=	=	=	=
<i>Зміни питомої ваги окремих ізоформ у спектрі</i>								
Резистентні генотипи *	1,09±0,03 ↑ $P=0,038$	0,97±0,03 =	1,02±0,04 =	1,05±0,08 =	0,95±0,01 ↓ $P=0,003$	0,99±0,04 =	1,04±0,04 =	
Сприйнятливі генотипи *	1,10±0,08 =	1,00±0,19 =	1,01±0,15 =	1,11±0,05 =	0,95±0,04 =	0,87±0,09 =	0,89±0,07 =	
P^1	=	=	=	=	=	=	=	=
r	=	=	=	=	=	=	=	=

Примітки: * — наведено середні арифметичні значення змін кількісних показників ізоформ у досліді в порівнянні з контролем в межах окремої групи рослин, їх стандартна помилка та рівень достовірності різниці між дослідом і контролем (P);

P^1 — рівень достовірності різниці між різними за стійкістю генотипами;

P^2 — рівень достовірності коефіцієнту кореляції;

r — коефіцієнт кореляції між зміною показників ізоформ і стійкістю до захворювання;

"=" означає відсутність достовірності різниці, або кореляції;

↑, ↓ — напрямок змін: збільшення чи зменшення значень показників.

Істотні зміни під впливом патогену спостерігалися також в експресивності ген-ензимних систем фенолоксидази (табл. 3). У цій системі чітко виявилася протилежна спрямованість змін, що формуються під впливом патогену, в різних за стійкістю рослин. Для стійких рослинних форм характерно підвищення активності практично всіх множинних форм ФО і, як наслідок, зростання загальної активності ферменту. В сприйнятливих генотипах, навпаки, активність жодної ізоформи ФО не підвищувалася, а у фракції з R_f 0,45 – 0,50 навіть достовірно знижувалася. Такі істотні розходження між резистентними та сприйнятливими рослинами за дії патогену обумовили наявність корелятивних зв'язків між змінами активності окремих ізоформ фенолоксидази та загальної активності ферменту і резистентністю генотипів (табл. 3). Значного перерозподілу ізоформ в спектрі ФО не виявлено ні у стійких, ні у сприйнятливих генотипів. Однак, за вивчення спектрів ФО спо-

стерігали розбіжності в характері реагування різних генотипів на інфекцію (табл. 3). Можна зазначити, що головною ознакою реакції ген-ензимної системи фенолоксидази резистентних рослин на інфікування збудником бурої листової іржі є загальне збільшення активності ферменту на фоні змін у розподілі окремих ізоформ на електрофореграмі.

Таблиця 3

Експресивність ген-ензимної системи фенолоксидази у різних за стійкістю до бурої листової іржі рослин після інфікування збудником

	Ізоформи, значення <i>Rf</i>							
	0,01–0,09	0,10	0,15	0,18	0,20–0,30	0,32–0,41	0,45–0,50	Всі ізоформи
<i>Зміни активності окремих множинних форм</i>								
Резистентні генотипи *	9,26± 1,99 ↑ <i>P</i> <0,001	11,15± 3,16 ↑ <i>P</i> =0,004	9,07± 3,46 ↑ <i>P</i> =0,022	17,96± 4,31 ↑ <i>P</i> =0,002	11,97± 3,48 ↑ <i>P</i> =0,007	- 1,62± 4,52 =	6,63± 3,92 =	9,96± 1,63 ↑ <i>P</i> <0,001
Сприйнятливі генотипи *	0,29± 7,73 =	1,64± 13,48 =	- 4,01± 8,17 =	19,72± 21,77 =	- 4,08± 1,45 =	- 13,13± 11,60 =	- 8,37± 1,68 ↓ <i>P</i> =0,042	- 1,19± 1,95 =
<i>P</i> ¹	=	=	=	=	0,001	=	0,003	0,007
<i>r</i>	0,49; <i>P</i> ² <0,05	=	=	=	0,53; <i>P</i> ² <0,05	=	=	0,67; <i>P</i> ² <0,01
<i>Зміни питомої ваги окремих ізоформ у спектрі</i>								
Резистентні генотипи *	1,00± 0,02 =	1,03± 0,04 =	1,00± 0,03 =	1,15± 0,08 =	1,04± 0,03 =	0,90± 0,30 ↓ <i>P</i> =0,007	1,00± 0,06 =	
Сприйнятливі генотипи *	1,03± 0,09 =	1,07± 0,14 =	0,98± 0,06 =	1,55± 0,54 =	0,97± 0,02 =	0,91± 0,08 =	0,93± 0,01 ↓ <i>P</i> =0,005	
<i>P</i> ¹	=	=	=	=	0,050	=	=	
<i>r</i>	=	=	=	=	=	=	=	

Примітки, як у таблиці 2.

Зміни у спектрах супероксиддисмутази, які індуковані взаємодією рослини-хазяїна з патогенним грибом, підсумовані в табл. 4. В протилежність вище розглянутим ферментам — ПО та ФО — загальна активність СОД у досліді достовірно не відхиляється від норми. Перебудови у ген-ензимній системі супероксиддисмутази головним чином пов'язані зі змінами активності та питомої ваги у електрофоретичному спектрі двох фракцій ферменту: малорухливої (*Rf* 0,09 – 0,18) та найбільш швидкої (*Rf* 0,54 – 0,60). При цьому, як і у випадку пероксидаз та фенолоксидаз, у різних за стійкістю рослин ці зміни в цілому здійснюються у протилежних напрямках. У стійких рослин інфікування збудником призводить до зниження питомої ваги у спектрі СОД фракції з *Rf* 0,09 – 0,18 і підвищення активності та збільшення її частки у спектрі множинних форм з *Rf* 0,54 – 0,60. У сприйнятливих рослин активність та питома вага фракції з *Rf* 0,09 – 0,18, навпаки, збільшується. Крім того, в спек-

трах СОД нестійких генотипів спостерігається зменшення питомої ваги фракції ферменту з електрофоретичною рухливістю 0,19 – 0,30. Зміни ізоформ СОД з Rf 0,09 – 0,18 та Rf 0,54 – 0,60 пов'язані зі стійкістю рослин до іржі статистично достовірними корелятивними взаємовідношеннями (табл. 4).

Таблиця 4

Експресивність ген-ензимної системи СОД у різних за стійкістю до бурої листової іржі рослин після інфікування збудником

	Ізоформи, значення Rf				
	0,01–0,08	0,09 – 0,18	0,19 – 0,30	0,54 – 0,60	Всі ізоформи
	<i>Зміни активності окремих множинних форм</i>				
Резистентні генотипи *	1,68± 3,17 =	- 4,57± 3,71 =	- 0,43± 2,92 =	10,09± 4,18 ↑P=0,016	0,77± 2,46 =
Сприйнятливі генотипи *	- 2,69± 19,69 =	21,54± 13,00 ↑P=0,047	- 4,43± 7,01 =	- 11,68± 8,97 =	3,99± 8,43 =
<i>P^I</i>	=	0,030	=	0,028	=
<i>r</i>	=	- 0,51; P ² <0,05	=	0,48; P ² <0,05	=
	<i>Зміни питомої ваги окремих ізоформ у спектрі</i>				
Резистентні генотипи *	1,01± 0,02 =	0,95± 0,02 ↓P=0,018	0,99± 0,02 =	1,13± 0,04 ↑P=0,027	
Сприйнятливі генотипи *	1,03± 0,13 =	1,10± 0,03 ↑P=0,038	0,96± 0,025 ↓P=0,025	0,92± 0,11 =	
<i>P^I</i>	=	0,014	=	0,049	
<i>r</i>	=	- 0,55; P ² <0,05	=	0,48; P ² <0,05	

Примітки, як у таблиці 2.

Результати аналізу змін, які відбуваються в спектрах естераз після взаємодії рослини з мікопатогеном, наведені у табл. 5. В протилежність усім вище розглянутим ферментам, реакція ген-ензимних систем, контролюючих естерази, у відповідь на інфікування рослин була принципово іншою. В резистентних рослинах патоген не викликав жодних достовірних змін активності множинних форм естераз та їх розподілу в спектрі, тобто ген-ензимна система естераз стійких генотипів характеризується значною стабільністю та не змінює свою експресивність під впливом збудника хвороби. Сприйнятливим рослинам, навпаки, властиве зменшення активності деяких множинних форм ферменту за відсутності підвищення активності інших ізоформ естераз. Особливо помітним є зниження активності та, як наслідок, питомої ваги множинної форми естерази з Rf 0,13. В зв'язку з цим зміни кількісних показників множинної форми естерази з Rf 0,13 за інфікування рослин добре корелюють з рівнем стійкості до бурої листової іржі (табл. 5).

Таблиця 5

Експресивність ген-ензимної системи естераз у різних за стійкістю до бурої листової іржі рослин після інфікування збудником

	Ізоформи, значення R_f					
	0,01–0,09	0,13	0,16 – 0,33	0,38 – 0,46	0,48 – 0,54	Всі ізоформи
	<i>Зміни активності окремих множинних форм</i>					
Резистентні генотипи *	2,95± 8,82 =	2,23± 5,12 =	- 1,79± 5,95 =	- 0,97± 3,81 =	5,63± 3,22 =	1,84± 6,66 =
Сприйнятливі генотипи *	0,86± 13,83 =	- 43,31± 16,80 ↓ $P=0,05$	-16,14± 9,72 =	5,56± 5,56 =	4,50± 4,50 =	-9,41± 1,74 =
P^I	=	0,05	=	=	=	=
r	=	0,57; $P^2<0,05$	=	=	=	=
	<i>Зміни питомої ваги окремих ізоформ у спектрі</i>					
Резистентні генотипи *	1,04± 0,04 =	1,03± 0,07 =	0,97± 0,04 =	0,26± 0,12 =	0,37± 0,16 =	
Сприйнятливі генотипи *	1,12± 0,07 =	0,77± 0,04 ↓ $P=0,05$	0,94± 0,02 =	0,38± 0,38 =	0,36± 0,36 =	
P^I	=	0,006	=	=	=	
r	=	0,50; $P^2<0,05$	=	=	=	

Примітки, як у таблиці 2.

На підставі представлених даних можна прийти до висновку, що взаємодія патогену з рослиною-хазяїном призводить до неоднозначних змін експресивності досліджуваних ген-ензимних систем у різних генотипів пшениці. Зазначені зміни проявляються певними відхиленнями кількісних показників електрофоретичних спектрів ферментів в умовах зараження від параметрів, які властиві рослинам у нормальному стані. Особливості змін залежать в першу чергу від рівня стійкості пшениці до збудника захворювання. Резистентним генотипам за їх інфікування властивий істотний зсув функціонування ген-ензимних систем оксидоредуктаз (ПО, ФО, СОД). У сприйнятливих рослин істотних змін у спектрах ферментів або не відбувається, або ці зміни мають принципово іншу спрямованість. Звичайний арифметичний підрахунок кількості змінених фракцій, що спостерігалися в ген-ензимних системах оксидоредуктаз стійких рослин у порівнянні зі сприйнятливими вже на другу після інфікування добу (15 проти 8), свідчить про більш високу лабільність та реактивність ген-ензимних систем у стійких до захворювання генотипів. Встановлені зміни можуть бути пов'язані не тільки з впливом патогену на загальний метаболізм клітин інфікованих рослин, але й із безпосередньою роллю вище зазначених ферментів у захисних реакціях організму [2–7; 22–28].

Про це свідчить наявність корелятивних зв'язків між рівнем стійкості рослин та змінами їх спектрів. Підтвердженням захисних функцій досліджуваних оксидоредуктаз є наявність встановлених раніше в наших дослідах кореляцій деяких показників електрофоретичних спектрів ферментів з присутністю у рослин певної кількості *Lr*- та *Vt*-генів [10, 11], тобто безпосередніх генетичних детермінантів, що визначають вертикальну стійкість рослин до відповідних мікопатогенів.

Не виключено, що для формування резистентності рослин важливими є не тільки лабільність та реактивність ген-ензимних систем, але й можливість збереження їх функціонування на певному рівні. Про це свідчить стабільність спектрів естераз у резистентних рослин за їх інфікування, чого не виявляється у сприйнятливих рослин.

Підсумовуючи обговорення отриманих результатів, можна також зробити висновок, який має важливе практичне значення. Ген-ензимні системи досліджуваних ферментів (пероксидаз, фенолоксидаз, супероксиддисмутаза та естераз) можуть бути застосовані для розробки тест-систем оцінки та прогнозування резистентності озимої м'якої пшениці до бурої листової іржі. В якості критеріїв визначення оцінки стійкості до патогену селекційних зразків виступатимуть показники електрофоретичних спектрів ферментів інтактних рослин та особливості змін зазначених показників на провокаційному інфекційному фоні. Для більш точного і надійного прогнозування стійкості нового селекційного матеріалу пропонується паралельний аналіз декількох ферментних систем з одночасним використанням в якості внутрішніх стандартів контрастних генотипів з відомим рівнем резистентності до захворювання.

Висновки

1. Експресивність досліджуваних ген-ензимних систем паростків пшениці змінюється після інфікування збудником бурої листової іржі як у резистентних, так й у сприйнятливих генотипів. Суттєвість змін залежить від рівня стійкості рослин до хвороби і має протилежну спрямованість у стійких та сприйнятливих до іржі генотипів.
2. Зміни функціонування ген-ензимних систем оксидоредуктаз стійких рослин після інфікування збудником відбуваються в першу чергу шляхом перерозподілу активності між окремими ізоформами ферментів; підвищується загальна активність пероксидаз та фенолоксидаз. Водночас за тих же умов досліду спектри ізоформ естераз тканин стійких генотипів практично не змінюються.
3. Генотипи резистентних рослин виявляють більшу лабільність та реактивність досліджуваних ген-ензимних систем і обумовлюють достатньо високий рівень їх функціонування в умовах ураження збудником бурої листової іржі.

4. Досліджувані ген-ензимні системи можуть бути використані для розробки тест-систем для оцінки та прогнозування резистентності озимої м'якої пшениці до бурої листової іржі, що важливо для практичної селекції.

Література

1. Чумаков А. Е. Проблемы ржавчины хлебных злаков // Защита растений. — 1968. — № 4. — С. 113–136.
2. Андреева В. А. Фермент пероксидаза. Участие в защитном механизме растений. — М.: Наука, 1988. — 128 с.
3. Запрометов М. Н. Фенольные соединения растений и их биогенез. "Биологическая химия". — Т. 27. (Итоги науки и техники. ВИНТИ АН СССР). — М., 1988. — 188 с.
4. Venere R. J. Role peroxidase in cotton resistant to bacterial blight // Plant Sci. Lett. — 1980. — Vol. 20, N 1. — P. 47–56.
5. Gay P. A. Tuzun S. Temporal and spatial assessment of defense responses in resistant and susceptible cabbage varieties during infection with *Xanthomonas campestris* // Physiol. And Mol. Plant Pathol. — 2000. — Vol. 57, N 5. — P. 201–210.
6. Peroxidase and β -glucosidase responses of tomato fruits to viral, bacterial and fungal infections / D. Georgieva, A. Edreva, R. Rodeva, V. Sotirova, E. Stoimenova // Plant peroxidase newsletter. — 2000. — N 15. — P. 29–35.
7. Monfalbini P. Superoxide dismutases and peroxidase activities in rust infected *Vicia faba* and *Phaseolus vulgaris* leaves // Rev. Pathol. veg. — 1987. — Vol. 23. — P. 99–108.
8. Множинні молекулярні форми деяких оксидоредуктаз і резистентність м'якої пшениці до фузаріозу / Л. Ф. Дьяченко, В. А. Топтіков, С. Л. Міресь, Л. Т. Бабаянц, В. М. Тоцький // Вісник ОНУ. — 2001. — Т. 6, № 1. — С. 59–66.
9. Сопряженность устойчивости озимых мягких пшениц к *Fusarium graminearum* Schwabe. и множественных молекулярных форм некоторых ферментов / В. А. Топтіков, С. Л. Міресь, Л. Ф. Дьяченко, В. Н. Тоцький, М. А. Залогина // Цитология и генетика. — 2002. — Т. 36, № 3. — С. 3–11.
10. Електрофоретичні спектри пероксидази у різних за стійкістю до бурої листової іржі та твердої сажки ліній озимої м'якої пшениці та їх батьків / В. А. Топтіков, Л. Ф. Дьяченко, В. М. Тоцький, Л. Т. Бабаянц // Вісн. ОНУ. — 2005. — Т. 10, вип. 3. — С. 70–84.
11. Експресивність ген-ензимних систем у споріднених ліній озимої м'якої пшениці, стійких до мікопатогенів / В. А. Топтіков, Л. Ф. Дьяченко, В. М. Тоцький, Л. Т. Бабаянц // Вісн. ОНУ. — 2005. — Т. 10, вип. 5. — С. 132–144.
12. Бабаянц Л. Т., Дубинина Л. А., Ющенко Г. М. Выявление неаллельных известным генов устойчивости к *Tilletia caries* (DC) Tul. линий пшеницы от межвидовой гибридизации (*Triticum aestivum* x *Aegilops cylindrica*) // Цитология и генетика. — 2000. — Т. 34, № 4. — С. 32–40.
13. Интрогрессия в пшеницу новых генов устойчивости к возбудителю твердой головки / Л. Т. Бабаянц, Л. А. Дубинина, В. Л. Барановская, В. А. Палясный // Зб. наук. праць СГІ. — О., вип. 2 (42). — 2002. — С. 70–75.
14. Бабаянц Л. Т., Рыбалка О. І., Аксельруд Д. В. Нове джерело стійкості пшениці до основних хвороб // Реалізація потенційних можливостей сортів і гібридів Селекційно-генетичного інституту в умовах України: Зб. наук. праць. — О., 1996. — С. 111–116.
15. Создание гибридов озимой мягкой пшеницы с *Aegilops cylindrica*, их изучение и перспективы / Д. В. Аксельруд, А. И. Рыбалка, Ю. Н. Карпюк, А. Н. Хохлов, О. И. Нагуляк // Цитология и генетика. — 1997. — Т. 31, № 4. — С. 45–51.
16. Бабаянц Л. Т., Мештерхази А. и др. Методы селекции и оценка устойчивости пшеницы и ячменя к болезням. — Прага, 1988. — С. 125–208.

17. 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.
18. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П. и др. Методы биохимического исследования растений. — Л.: Агропромиздат, 1987. — 430 с.
19. Гааль Э., Медьеша Г., Верецкеи Л. Электрофорез в разделении биологических молекул. — М.: Мир, 1965. — 448 с.
20. Левитес Е. В. Генетика изоферментов растений. — Новосибирск: Наука, 1986. — 144 с.
21. Дуниин М. С., Буданов В. Е. Развитие бурой ржавчины пшеницы различного происхождения // Вестн. с.-х. Науки. — 1974. — № 1. — С. 17–25.
22. Лесовой М. П., Кравець А. Ф., Шелехова Л. И. Исследование степени активирования изозимов пероксидазы в связи с наследованием иммунологических реакций пшеницы к возбудителю бурой ржавчины // Физиология и биохимия культурных растений. — 1981. — Т. 13, № 3. — С. 263–268.
23. Чигрин В. В., Шутова Е. А., Саутич М. А. Изменение активности пероксидазы у устойчивых и восприимчивых сортов пшеницы при заражении стеблевой ржавчиной // Физиология растений. — 1973. — Т. 20, № 1. — С. 79–84.
24. Палилова А. Н., Фомченко Н. С. Особенности спектров изоформ ферментов изогенных линий мягкой пшеницы при заражении бурой ржавчиной // Сельскохозяйственная биология. — 1993. — № 3. — С. 127–129.
25. Мартюченко С. А. Изоэлектрофокусирование пероксидаз листьев и корней пораженных стеблевой ржавчиной растений пшеницы // Физиология растений. — 1975. — Т. 22, № 5. — С. 1079–1081.
26. Рубин Б. А., Ладыгина М. Е. Физиология и биохимия дыхания растений. — М.: Изд-во Московского университета, 1974. — 512 с.
27. Дмитриев А. П. Сигнальные системы иммунитета растений // Цитология и генетика. — 2002. — Т. 36, № 3. — С. 58–68.
28. Шакирова Ф. М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. — Уфа: Гилем, 2001. — 160 с.

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

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

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

СОСТОЯНИЕ ГЕН-ЭНЗИМНЫХ СИСТЕМ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ИХ ВОЗБУДИТЕЛЕМ БУРОЙ ЛИСТОВОЙ РЖАВЧИНЫ

Резюме

Проведено ген-энзимное тестирование линий озимой мягкой пшеницы, содержащих интрогрессированные из *Aegilops cylindrica*, *Triticum dicoccoides* и *Triticum erebuni* гены резистентности к микопатогенам, путем исследования особенностей спектров пероксидаз, фенолоксидаз, супероксиддисмутаза и эстераз. Установлено, что взаимодействие растения-хозяина с микопатогеном приводит к изменению экспрессивности ген-энзимных систем, обеспечивающих процессы общего метаболизма. Сдвиги функционирования исследуемых ферментов, происходящие на фоне инфицирования, имеют в целом противоположную направленность у восприимчи-

вых и устойчивых к ржавчине генотипов. Выявлены достоверные коррелятивные взаимоотношения между уровнем устойчивости растений к болезни и некоторыми количественными показателями спектров ферментов. Установлено, что генетические системы резистентных генотипов обеспечивают более высокий уровень лабильности и реактивности ген-энзимных систем с одновременным сохранением их функционирования на необходимом уровне. Исследуемые ферменты могут быть использованы для разработки тест-систем для оценки и прогнозирования резистентности озимой мягкой пшеницы к бурой листовой ржавчине.

Ключевые слова: пшеница, резистентность, бурая листовая ржавчина, множественные молекулярные формы ферментов, взаимодействие генов, ген-энзимная система.

V. A. Toptikov¹, **L. F. Diachenko**¹, **V. N. Totsky**¹, **L. T. Babayants**²

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

² Plant Breeding and Genetic Institute,
Ovidiopolskaya St., 3, Odessa, 65036, Ukraine

THE STATE OF GENE-ENZYME SYSTEMS OF WHEAT SEEDLINGS UNDER LEAF RUST PATHOGENE INFECTION

Summary

The gene-enzyme testing of winter soft wheat with genes of micopathogene resistance being introgressed from *Aegilops cylindrica*, *Triticum dicoccoides* and *Triticum erebuni* previously, obtained by investigation of peroxidases, phenoloxidases, superoxydesmutases and, esterases spectra features. It is found out, that the interaction of plant-host with micopathogene brings to changes of gene-enzyme systems, ensuring the processes of general metabolism. The reorganization of the studied enzymes taking place on the background of infection, has the opposite direction for the genotypes susceptible and resistant to leaf rust. The reliable correlative relationship has been revealed between the level of plant stability to the disease and some quantitative indices of the enzymes spectra. The genetical systems of the resistant genotypes provide higher level of lability and reactivity of gene-enzyme systems with preservation of their functioning at the necessary level. The studied enzymes can be used for working out of the test-system for estimation and prediction of soft winter wheat resistance to leaf rust.

Keywords: wheat, resistance, brown leaf rust, multiple molecular forms of ferments, gene interaction, gene-enzyme system.

УДК 576.315:575.222.73:633.1

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

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИН АНТИПОДАЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ ДЕЯКИХ ФОРМ ЗЛАКІВ

Проведено порівняльний аналіз морфології клітин антиподального комплексу пшениці, жита та пшенично-житніх гібридів другого та третього поколінь. Особливу увагу звертали на морфологічні параметри ядерця та динаміку їх змін в залежності від форми злаку та етапу онтогенезу.

Ключові слова: антиподальний комплекс, пшениця, жито, пшенично-житні гібриди, ядерце.

У зв'язку з важливою роллю антиподального комплексу злаків у розвитку та життєздатності зародкового мішка, ендосперму та зародка дослідженням його функціонування надовалося багато уваги [1–6 та ін.]. Як відомо, кількість та розміри клітин антипод є специфічними показниками, що характеризують антиподальний комплекс злаків [6, 7, 8]. На видах родини *Triticum*, була виявлена відсутність суворого паралелізму між середнім об'ємом ядер клітин антипод в зрілому зародковому мішку та числом хромосом; розмір ядер антипод варіює як в межах кожного зародкового мішка так і у різних видів і сортів, що не в останню чергу залежить від ступеня політенізації хромосом. Проте є відповідність між хромосомним набором і сумарними показниками об'єму ядер та ядерця клітин антиподального комплексу, які характеризуються добутком кількості антипод на середній об'єм їх ядер та ядерця [9].

З огляду на інтегрованість складних біологічних процесів всебічне дослідження антиподального комплексу має велике значення. У розвитку і функціонуванні антипод разом зі структурними генами білків значну роль відіграють гени рРНК, що забезпечують функціонування білок-синтезуючої системи клітин [10]. Морфологічним проявом активності генів РНК є ядерце; кількість та об'єм ядерця є ознаками, за якими можна судити про інтенсивність синтетичних процесів клітини та про її функціональні особливості [11–15]. Аспекти розвитку антиподального комплексу у віддалених гібридів, які являють собою результат взаємодії геномів систематично віддалених форм, на сьогодні з'ясовані недостатньо [7, 8]. Метою даної праці є вивчення розвитку антиподального комплексу 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 покоління від схрещування м'якої пшениці сорту Безоста 1 з житом Одеське 1.

Різновікові зав'язі (у фазі колосіння та цвітіння рослин) фіксували за Карнуа, Навашиним та Чіаччіо [16]. Мікротомні зрізи завтовшки 10 мкм забарвлювали на білки — бромфеноловим синім за Мезіа [17], на нуклеїнові кислоти — за Фьольгеном, на ліпиди — суданом чорним Б за Мак-Манусом [16]. Для кожної форми злаків було виготовлено від 30 до 40 препаратів. Постійні мікротомні препарати вивчали під світловим мікроскопом "БЮ-ЛАМ". Мікрофотографії робили з цього ж мікроскопа з використанням цифрового фотоапарата OLYMPUS C-370 ZOOM при збільшенні об'єктива 40х, а окуляра — 15х. Діаметри ядер та ядерця вимірювали за допомогою гвинтового окуляр-мікрометра та з використанням програми PhotoM 1.21. Об'єми вираховували як для еліпсоїду. Визначені об'єми та величини ядерно-ядерцевих співвідношень (далі ЯЯС) обробляли статистично [18].

Результати та їх обговорення

Для клітин антиподального комплексу сформованих зародкових мішків жита характерна наявність одного досить великого інтенсивно забарвленого ядерця. За дозрівання зародкового мішка ядерце в антиподах збільшується пропорційно збільшенню ядра. Хроматин у ядрах антипод незрілого зародкового мішка зібраний у глибки, які відокремлені одна від одної, зрідка можуть бути з'єднані тяжами (рис. 1 А). В ядрах антипод зрілого зародкового мішка жита хроматин більш диспергований; щільне, округле, сильно забарвлене ядерце, яке не має порожнин і лакун, розташовується в чітко окресленому оперкульюмі (рис. 1 Б), а самі антиподи сильно вакуолізовані.

В ядрах антипод сформованого зародкового мішка м'якої пшениці, на відміну від таких у жита, хроматин знаходиться в диспергованому стані (рис. 2). По мірі дозрівання зародкового мішка в ядрах клітин антипод хроматин відтискується до периферії, а центр ядра займає велике ядерце. Найбільш часто антиподи пшениці містять одне ядерце; в ювенільних зародкових мішках зустрічаються багатоядерцеві клітини (рис. 2).

В міру дозрівання зародкового мішка у більшості клітин антиподального комплексу відбувається злиття ядерця (рис. 3 А). Ядерця антипод пшениці сферичної форми, великі і щільні; в деяких антиподах ядерце неоднорідне, має численні дрібні вакуолі, особливо добре помітні у випадку попадання в них повітря в процесі виготовлення препарату (рис. 3 Б). Середня кількість клітин антиподального комплексу пшениці — $29,16 \pm 1,21$, жита — $19,26 \pm 1,41$; розмах значень для пшениці — 24–36, для жита — 16–32.

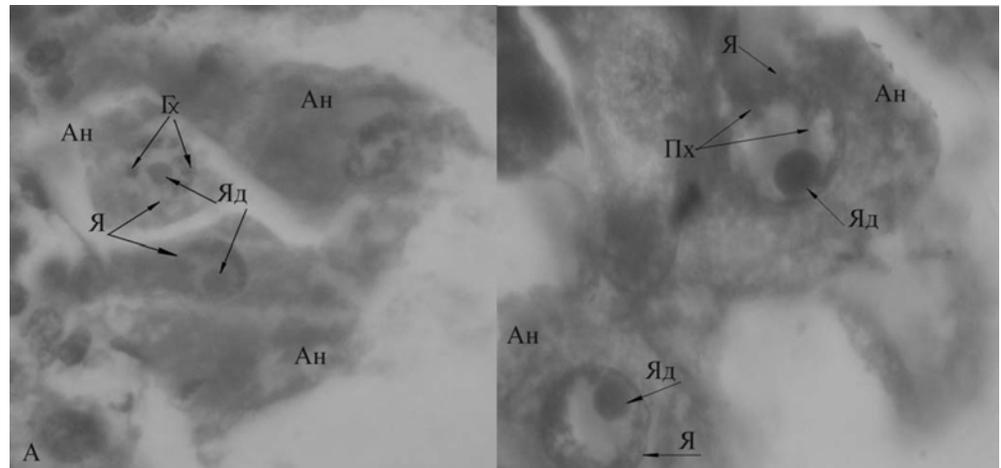


Рис. 1. Клітини антиподального комплексу зародкового мішка, який дозріває (А), та зрілого зародкового мішка жита Одеське 1 (Б). Ан — антипода, Гх — глибки хроматину, Пх — політенні хромосоми, Я — ядро, Яд — ядерце

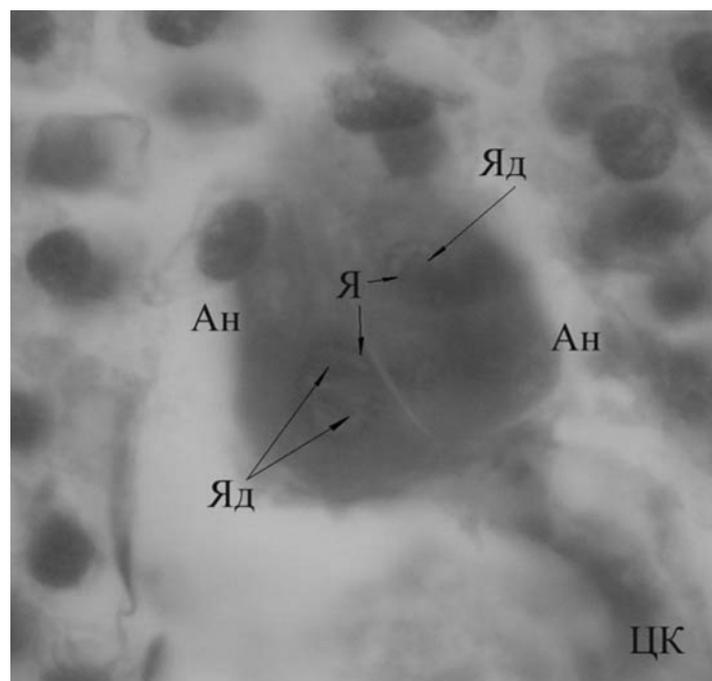


Рис. 2. Антиподальний комплекс сформованого зародкового мішка пшениці Безоста 1. Ан — антипода, Я — ядро, Яд — ядерце

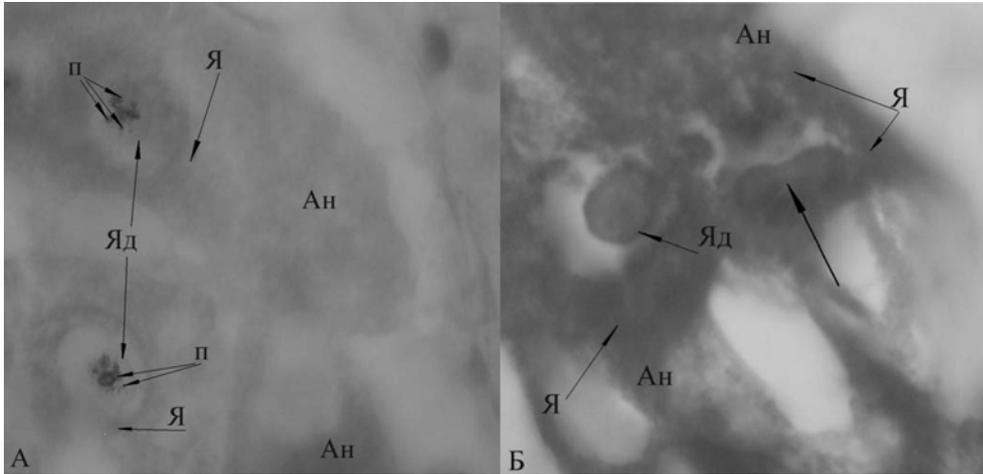


Рис. 3. Клітини зрілого антиподального комплексу пшениці Безоста 1. Злиття ядерця вказано стрілкою. Ан — антипода, п — порожнини — ядерцеві вакуолі, в які потрапило повітря, Я — ядро, Яд — ядерце

В ядрах антипод зрілого зародкового мішка пшениці добре помітні політенні хромосоми (рис. 4, А; 4, Б), у цитоплазмі — великі вакуолі.

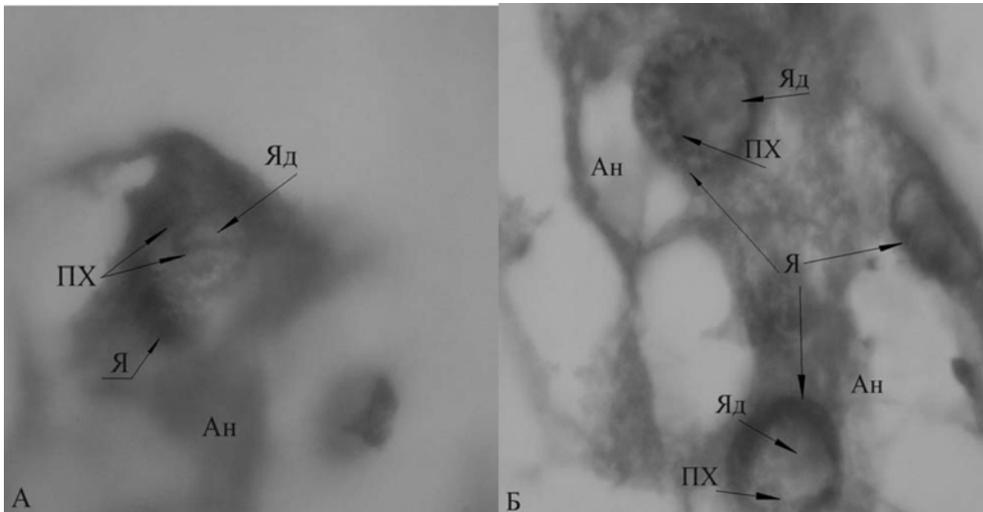


Рис. 4. Політенні хромосоми антипод пшениці. Забарвлення за Фольгеном, цитоплазма та ядерце підфарбовані ліхтгрюном. Ан — антипода, ПХ — політенні хромосоми, Я — ядро, Яд — ядерце

У другого покоління пшенично-житніх гібридів через незбалансованість їх геному зародкові мішки утворюються не в кожному насін-

невому зачатку. В тих випадках, коли вони все-таки утворюються, формування їх відбувається нормально, але дозрівання проходить дуже повільно. В результаті в фазі цвітіння рослин зародкові мішки в цілому та їх антиподи як за розмірами, так і за будовою майже не відрізняються від таких у фазі колосіння рослин (рис. 4 А; 4 Б). Середня кількість клітин у антиподальному комплексі зародкових мішків F_2 пшенично-житнього гібриду — $13,24 \pm 1,94$. Отже, перший етап диференціації антипод — поділ клітин — або зовсім не відбувається, або дуже пригнічений (рис. 5). Другий етап — політенізація хромосом — до цвітіння рослин не наступає. В більшості випадків ядро антипод містить одне ядерце. Воно досить велике, щільне, без вакуолей. В зародкових мішках F_2 гібридів в антиподах спостерігався навколоядерцевий хроматин; інколи його форма нагадувала пелюстки квітки (рис. 6). За розмірами клітини — антиподи F_2 подібні до таких у дозріваючих зародкових мішків батьківських форм і значно дрібніші за такі у зрілих зародкових мішків.

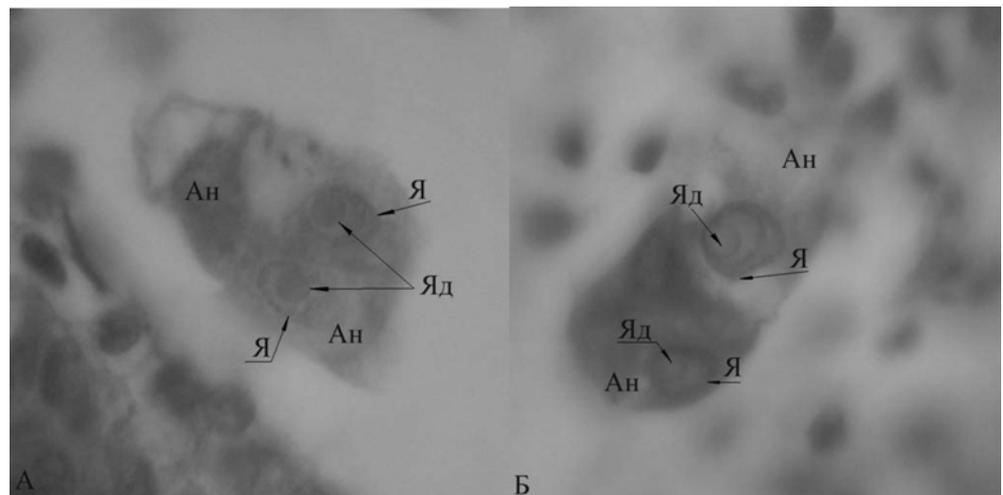


Рис. 5. Зародковий мішок F_2 пшенично-житнього гібриду Безоста 1 x Одеське 1 під час колосіння рослин (А) і під час їх цвітіння (Б). Ан — антипода, Я — ядро, Яд — ядерце

Як відомо [13, 20], навколоядерцевий хроматин утворюється конденсованими неактивними ділянками рДНК. Експресія генів рРНК в таких ядрах знижена. Це, мабуть, є однією з причин відхилень, які спостерігаються за диференціації клітин і дозрівання зародкового мішка F_2 гібридів. Відсутність вакуолей в цитоплазмі антипод підтверджує їх недиференційований стан.

Клітини антиподального апарату зародкових мішків третього покоління пшенично-житніх гібридів за морфологією подібні до таких материнської форми. По мірі дозрівання зародкового мішка

збільшуються розміри клітин, ядер і ядерця; стають добре помітними політенні хромосоми (рис. 7). Антиподи в основному одно-ядерцеві.

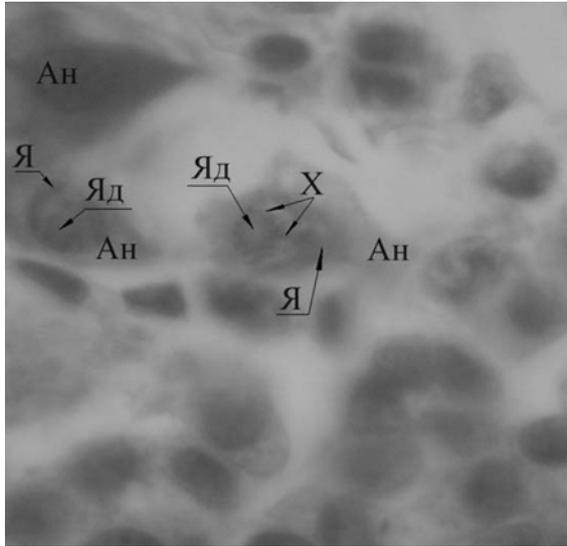


Рис. 6. Антиподи зародкового мішка F_2 — пшенично-житнього гібриду
Я — ядро, Яд — ядерце, А — антипода, Х — хроматин, який оточує ядерце як
пелюстки квітки, вказано стрілкою

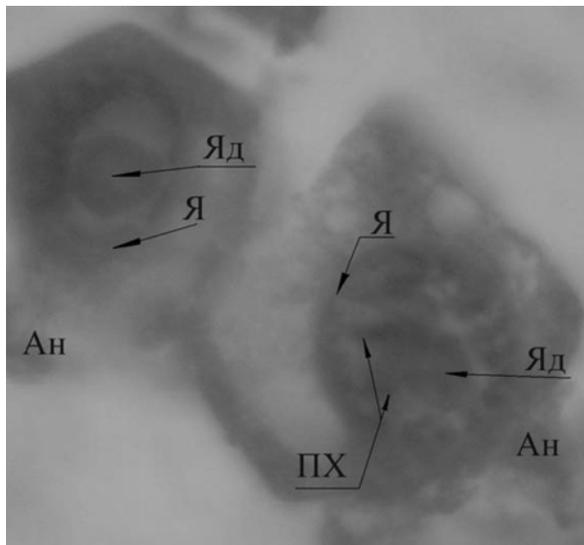


Рис. 7. Політенні хромосоми антипод третього покоління пшенично-житніх
гібридів від схрещування Безостої 1 і Одеського 1.
Я — ядро, Яд — ядерце, А — антипода, ПХ — політенні хромосоми

На відміну від батьківських форм і гібридів другого покоління, для морфології ядерця антипод гібридів третього покоління характерна розмаїтість навіть у межах антиподального комплексу одного зародкового мішка: зустрічалися ядерця як сферичної форми, так і видовжені, — як гомогенні, щільні, так і з вакуолями — порожнинами. Ці порожнини, на відміну від дрібних порожнинок у ядерцях пшениці, часто були досить великими (рис. 8 А, Б). Число, розмір і форма порожнин у ядерці варіюють, як і інтенсивність його забарвлення. Досить часто зустрічалися ядерця з інвагінаціями, що мають на сагітальній проекції форму напівкільця (рис. 8 В, Г). Розміри клітин антиподального комплексу і ступінь їх вакуолізації також відрізнялися значним розмахом.

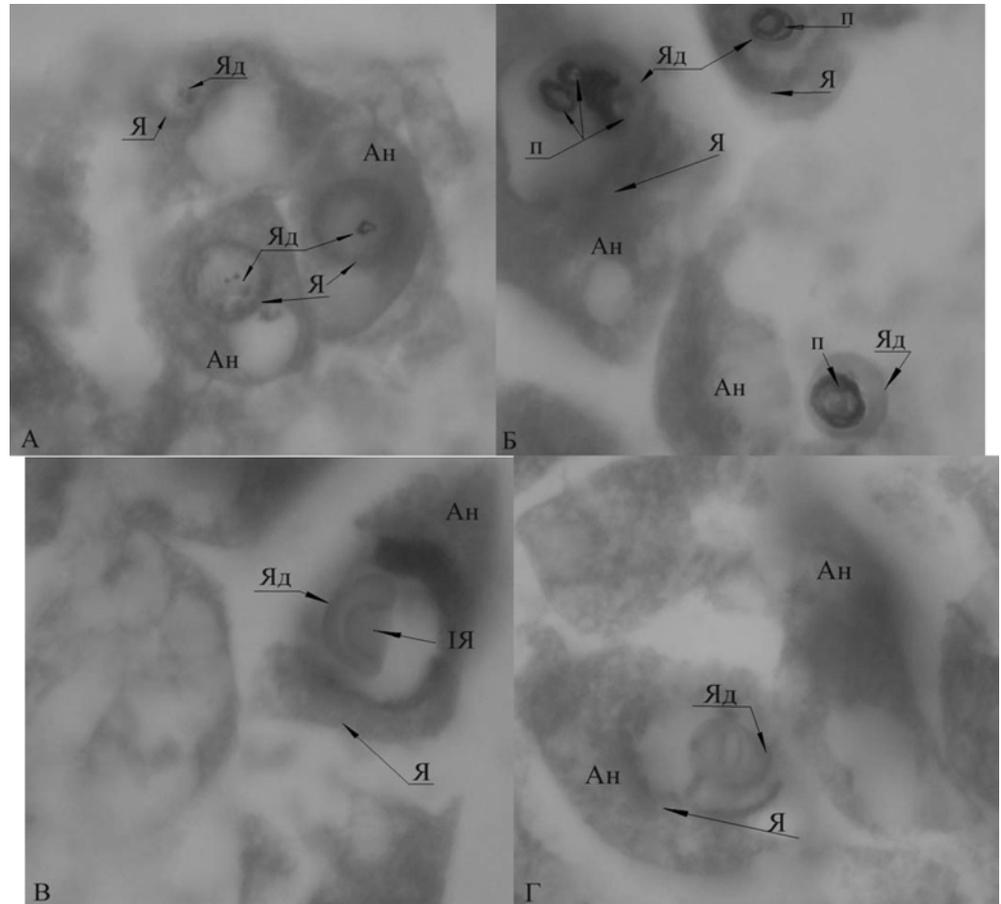


Рис. 8. Ядерця клітин антиподального комплексу зрілого зародкового мішка третього покоління пшенично-житніх гібридів.
 Я — ядро, Яд — ядерце, А — антипода, П — порожнини у ядерцях антипод, НК — ядерце у формі напівкільця, ІЯ — ядерце з інвагінацією

Середня кількість антиподальних клітин у складі антиподального комплексу пшенично-житніх гібридів третього покоління — $24,41 \pm 1,46$. Середня кількість клітин у складі антиподального комплексу вірогідно розрізняється у всіх досліджених форм злаків.

Висновки

1. Середня кількість клітин у антиподальному комплексі досліджуваних форм злаків вірогідно ($P \leq 0,01$) різниться.
2. У F_2 пшенично-житніх гібридів поділ клітин антипод пригнічений, іноді зовсім не відбувається.
3. Політенізація хромосом в ядрах антипод другого покоління пшенично-житніх гібридів до цвітіння рослин не наступає.
4. Однією з причин стерильності зародкового мішка F_2 пшенично-житніх гібридів є компактизація частини рДНК, утворення навколоядерцевого хроматину.
5. У F_3 пшенично-житніх гібридів будова антиподального комплексу наближається до такої у материнської форми — пшениці.

Література

1. Батыгина Т. Б. Эмбриология пшеницы. — Л.: Колос, 1974. — 206 с.
2. Ивановская Е. В. Цитозембриологическое исследование дифференцировки клеток растений. — М.: Изд-во МГУ, 1983. — 152 с.
3. Бейлис-Вирова Р. А. Історія індивідуального розвитку жита. — К.: Держсільгоспвидав УРСР, 1962. — 144 с.
4. Цитозембриология основных хлебных злаков / Я. С. Модилевский, П. Ф. Оксикюк, М. И. Худяк, Л. К. Дзюбенко, Ф. А. Бейлис-Выровая. — К.: Изд-во АН УССР, 1958. — 336 с.
5. Бланковська Т. Ф., Шестопад О. Л. Кількість та розміри антипод шестирядного та дворядного ячменю // Вісник ОДУ. — 2002. — Т. 7, № 1. — С. 249–253.
6. Шмараев И. Г. Ультраструктура антипод зародышевого мешка *Triticum aestivum* L. в связи с их функцией // Тез. докл. XIII делегат. съезда ВБО "Актуальн. вопросы ботан. в СССР". — Алма-Ата, 1988. — С. 372–373.
7. Антиподальный аппарат злаков та продуктивність рослин / Т. П. Бланковська, О. Л. Шестопад, Т. Г. Трочинська, В. Л. Давиденко // Біологічні науки та проблеми рослинництва. — Умань, 2003. — С. 332–336.
8. Бланковська Т. П., Трочинська Т. А. Розвиток зародкового мішку у другого та третього поколінь пшенично-житніх гібридів // Вісник Одеського національного університету. — 2002. — Т. 7, вип. 1. Біологія. — С. 243–248.
9. Бланковская Т. Ф. Морфо-функциональные аспекты развития генеративных структур хлебных злаков: Автореф. дис... д-ра биол. наук. — С.Пб., 1992. — 31 с.
10. Челидзе П. В. Ультраструктура и функции ядрышка интерфазной клетки. — Тбилиси: Мецниереба, 1985. — 119 с.
11. Молекулярная биология клетки: В 3 т.: Пер. с англ. / Б. Албертс, Д. Брей, Дж. Льюис, М. Рэфф, К. Робертс, Дж. Уотсон. — 2-е изд., перераб. — М.: Мир. — 540 с.
12. Соболев М. А. Роль ядрышка в реакциях растительных клеток на действие физических факторов окружающей среды // Цитология и генетика. — 2001. — Т. 34, № 3. — С. 72–84.

13. Архипчук В. В. Использование ядрышковых характеристик в биотестировании // Цитология и генетика. — 1995. — Т. 29, № 3. — С. 6–12.
14. Хволес А. Г., Черняев Т. А. Механизм стимуляции мутагенами // Докл. АН СССР. — 1988. — Т. 301, № 5. — С. 985–988.
15. Цитогенетический анализ определения влияния пороговых величин антропогенных факторов на геном растений и животных / В. В. Архипчук, В. Д. Романенко, М. В. Архипчук, Л. С. Кипнис // Докл. РАН. — 1992. — Т. 326, № 5. — С. 908–910.
16. Роскин Г. Н., Левинсон Л. Б. Микроскопическая техника. — М.: Сов. наука, 1957. — 468 с.
17. Паламарчук И. А., Веселова Т. Д. Учебное пособие по ботанической гистохимии. — М.: Изд-во МГУ, 1965. — 108 с.
18. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — Минск: Выш. школа, 1973. — 319 с.

Т. Г. Трочинская, Т. Ф. Бланковская

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

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОК
АНТИПОДАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА НЕКОТОРЫХ ФОРМ ЗЛАКОВ**

Резюме

Проведен сравнительный анализ морфологии клеток антиподального комплекса пшеницы, ржи и пшенично-ржаных гибридов второго и третьего поколений. Особенное внимание обращали на морфологические параметры ядрышка и динамику их изменений.

Ключевые слова: антиподальный комплекс, пшеница, рожь, пшенично-ржаные гибриды, ядрышко.

T. G. Trochinskaya, T. Ph. Blankovskaya

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

**MORPHOLOGICAL CELL PECULIARITIES OF SOME CEREALS
ANTIPODAL COMPLEX**

Summary

The comparative cells analysis of antipodal morphology has been made among the second and third generations of wheat-rye hybrids and parental forms. The morphological parametres of nucleolus and its dynamic during embryo sac development have been investigated.

Keywords: anti podal complex, wheat, rye, wheat-rye hybrids, nucleolus.

ЗООЛОГІЯ



УДК 595.733(477)

О. С. Дятлова, асп.Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра зоології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ОСОБЛИВОСТІ ПОЛІМОРФНИХ ПОПУЛЯЦІЙ БАБОК ПІВДЕННОГО ЗАХОДУ УКРАЇНИ

Вперше вивчені популяційні характеристики двох модельних видів бабок південного заходу України: *Coenagrion pulchellum* (Vander Linden, 1825) та *Ischnura elegans* (Vander Linden, 1820). Отримані дані про фенологію льоту бабок і статеву структуру їх популяцій. У двох популяціях *I. elegans* протягом усього періоду льоту постійно були присутні ювенільні особини. Вивчено співвідношення гіноморфних та андроморфних самиць в популяціях модельних видів бабок. Показано, що на південному заході України андроморфні самиці *C. pulchellum* склали 25%. У двох вивчених популяціях *I. elegans* андроморфні самиці склали відповідно 52 і 66%.

Ключові слова: бабки, поліморфізм самиць, південний захід України, Odonata.

Поліморфізм може бути визначений як наявність декількох дискретних фенотипів, які чітко відрізняються, в єдиній популяції з вільним схрещуванням особин. Термін "поліморфізм" використовується для позначення переривчастої генетичної мінливості. Поліморфні варіанти (морфи) іноді настільки сильно відрізняються від "нормального" типу популяції, що їх помилково описували як нові види [1].

Поліморфізм забарвлення самиць зустрічається у різних тварин, але він найбільш різноманітний у комах, особливо у рівнокрилих бабок (Zygoptera) [2–4].

Відомо, що поліморфізм самиць бабок може виявлятися різноманітним чином: у відмінах забарвлення крил і тіла у різних морф самиць одного виду та у андроморфному (тобто як у самців) забарвленні самиць. За наявністю (чи відсутністю) поліморфізму О. Фінке з співавт. [5] поділили вивчені родини бабок Голарктики на три категорії:

- відсутність поліморфізму самиць та статевий диморфізм: у представників родин Petaluridae, Gomphidae, Cordulegastridae, Macromiidae, Corduliidae;
- рідкісні випадки поліморфізму самиць та статевий диморфізм: у представників родин Calopterygidae, Lestidae, Platycnemidae;
- часті випадки поліморфізму самиць та статевий диморфізм: у представників родин Aeshnidae, Libellulidae, Coenagrionidae.

Дослідження щодо успадкування поліморфізму серед генерацій, які були проведені в лабораторних умовах на декількох видах рівнокрилих бабок (*Ischnura damula* Calvert, 1902, *I. demorsa*

(Hagen, 1861), *I. graellsii* (Rambur, 1842), *I. elegans* (Vander Linden, 1820) и *Ceriagrion tenellum* (Villers, 1789)), довели, що у вивчених видів поліморфізм контролюється одним аутосомним локусом з кількістю алелей, яке дорівнює кількості морф і проявляється тільки у самиць. Цікаво, що у *I. damula*, *I. demorsa* и *C. tenellum* андроморфні самиці є рецесивними гомозиготами, а у *I. graellsii* та *I. elegans* рецесивними є гіноморфні самиці [6–9].

Відомості про поліморфізм бабок України є уривчастими та наведені в нечисленних роботах [10–13]. За попередніми даними, які потребують уточнення, в Україні мешкає 24 поліморфних види бабок [5]. На півночі України в популяціях *Coenagrion puella* (Linnaeus, 1758) та *I. elegans* відмічено відповідно 19 та 24% андроморфних самиць [10, 11].

Для рідкісної ізольованої популяції *Calopteryx splendens ancilla Selys*, 1853 з пониззів р. Дунай описано дві морфи самиць: гіноморфа з прозорими крилами та андроморфа з крилами, що забарвлені як у самців. Через малу чисельність особин в цій популяції співвідношення двох морф ще тільки має бути встановлене [14].

Кожна морфа може бути найбільш пристосованою до різних умов довкілля в різний час. Вивчення поліморфізму популяцій відкриває шляхи до прогнозування її виживання в умовах мінливого довкілля та має велике наукове й практичне значення у вирішенні проблеми збереження біорізноманітності [15].

Метою цієї роботи було виявлення на південному заході України видів бабок, для яких є характерним поліморфізм забарвлення самиць, опис поліморфних популяцій, включаючи оцінку частоти зустрічальності різних морф. Першим кроком у даному дослідженні було вивчення поліморфних популяцій двох найбільш масових видів бабок *I. elegans* и *C. pulchellum*.

Матеріал і методи

Матеріалом даних досліджень слугували представники масових видів бабок (підряд Zygoptera, родина Coenagrionidae), які широко розповсюджені в Україні та у всій Європі: *I. elegans* та *C. pulchellum* [2, 16].

Дослідження проводили в Одеській області. Вивчення структури популяцій *I. elegans* було проведено у двох точках стаціонарних спостережень у 2003 р.: біля с. Усатове (46°31'N 30°40'E) Біляївського р-ну, на березі ставка, який відділено дамбою від Хаджибейського лиману (точка № 1) та в околицях с. Прилиманське (46°22'N 30°38'E) Овідіопольського району, у верхів'ї Сухого лиману на березі "Веслувальної бази" (точка № 2). Дослідження структури популяції *C. pulchellum* проведено в точці № 2 в 2004 р.

Для *I. elegans* щодавно з першої половини червня до першої половини вересня зажиттєво визначали вікову та статеву структуру локальних популяцій, співвідношення андроморфних та гіноморф-

них самиць, а також перехід вікових форм забарвлення самиць від молодих фіолетових до проміжних жовто-зелених, фіолетово-зелених та дорослих — бірюзово-блакитних й маслиново-зелених форм. Проаналізовано 675 особин *I. elegans* (451 ♂ и 224 ♀) в точці № 1 та 586 особин (399 ♂ и 187 ♀) в точці № 2.

Для *C. pulchellum* є характерним більш короткий період льоту — з першої половини травня до першої половини липня, впродовж якого фіксували андроморфних, гіноморфних самиць та співвідношення статей в популяції. Всього проаналізовано 229 особин *C. pulchellum* (142 ♂ и 87 ♀).

Дані, що були отримані, обробляли статистично з використанням традиційних статистичних методів [17].

Результати досліджень та їх обговорення

Морфи самиць бабок

Поліморфні популяції бабок є цікавими та маловивченими. В популяціях *I. elegans*, що мешкають в Центральній Європі зустрічаються три морфи самиць: андроморфа та дві гіноморфи — "*infuscans*" та "*rufescens-obsolata*" [2]. На південному заході України в популяціях *I. elegans* у теперішній час описані тільки дві морфи самиць: андроморфа та гіноморфа "*infuscans*" [12, 13].

Зажиттєва ідентифікація морф *I. elegans* зазвичай не викликає труднощів. Грудний відділ андроморфних самиць *I. elegans* забарвлений, як у самців, у блакитний колір. Гіноморфні самиці "*infuscans*" відрізняються від андроморфних тим, що грудний відділ "*infuscans*" забарвлений у жовтувато-коричневий чи маслинний колір. Восьмий сегмент черевця з дорзального боку коричневий, а з віком стає майже чорним. Гіноморфні самиці "*rufescens-obsolata*" мають рожеве забарвлення грудей у молодих особин та коричнювате у дорослих. Восьмий сегмент з дорзального боку у молодих особин забарвлений у блакитний колір, а у дорослих — у темно-коричневий чи практично чорний, як у "*infuscans*". Забарвлення грудей значно темніше, ніж у "*infuscans*".

Для європейських популяцій *C. pulchellum* розрізняють дві морфи: андроморфу та гіноморфу [2]. Дорослі андроморфні самиці *C. pulchellum* мають блакитне забарвлення грудного відділу, гіноморфні самиці забарвлені у зеленувато-жовтий колір. Андроморфні самиці *C. pulchellum* на дорзальному боці черевця мають характерні блакитні фрагменти, гіноморфні самиці мають темне забарвлення всього дорзального боку черевця. Таким чином, дві морфи самиць *C. pulchellum* можуть бути легко розпізнані в природі.

Характеристика поліморфних популяцій бабок

Вікова структура популяції *I. elegans* може бути встановлена за наявністю особин с перехідним забарвленням. За даними А. Кор-

дере [8], молоді самиці *I. elegans* послідовно проходять серію кольорових перетворень за 10 діб, а статевого дозрівання досягають через 5–6 діб, причому відмінності у забарвленні андроморфних та гіноморфних самиць добре відрізняються як у ювенільної молоді, так і у дорослих імаго. Молоді самці забарвлені у світло-зелений колір, статевозрілі — в яскраво-синій. Таким чином, вікові зміни забарвлення самиць та самців *I. elegans* дозволяють достатньо точно встановити співвідношення в популяції молоді, яка щойно вилетіла, та зрілих особин. Як правило переважають молоді особини.

Вивчення вікової структури двох популяцій показало, що протягом всього періоду льоту в популяціях *I. elegans* зустрічаються молоді нестатевозрілі особини. Це свідчить про те, що виліт імаго з личинок відбувається безперервно, хоч співвідношення дорослих й молодих особин значно коливається протягом всього періоду льоту бабок.

У зв'язку з дуже коротким періодом льоту *C. pulchellum* порівняно з *I. elegans*, питання про вивчення вікової структури популяції для цього виду у теперішній час залишається відкритим.

Аналіз статевої структури двох популяцій *I. elegans* та популяції *C. pulchellum* показав, що чисельність самців всіх віків з високим ступенем вірогідності переважала над чисельністю самиць протягом всього періоду льоту імаго (табл. 1).

Таблиця 1

Співвідношення самців і самиць в популяціях *I. elegans* та *C. pulchellum*

Популяція	Точка відбору	Самиці		Самці		t _{st}
		N	Частка у вибірці ± середня помилка	N	Частка у вибірці ± середня помилка	
<i>I. elegans</i>	1	224	0,33 ± 0,03	451	0,67 ± 0,02	8,85***
	2	187	0,32 ± 0,03	399	0,68 ± 0,02	8,71***
<i>C. pulchellum</i>	2	87	0,38 ± 0,05	142	0,62 ± 0,04	3,63***

Примітка: тут і далі *** — $p \leq 0,001$.

Аналіз співвідношення морф самиць *I. elegans* за весь період льоту імаго дозволив виявити розходження за цим показником у двох віддалених популяціях південного заходу. Для точки спостережень № 1 співвідношення андро- і гіноморфних самиць було однаковим. В точці № 2 чисельність андроморфних самиць перевищувала чисельність гіноморфних. На відміну від популяції *I. elegans*, в популяції *C. pulchellum* гіноморфні самиці вірогідно переважали над андроморфними (табл. 2).

В табл. 2 наведені узагальнені дані щодо співвідношення морф самиць протягом усього сезону спостережень. Такий метод аналізу було використано для порівняння наших даних з даними, які наведені в роботі О. Фінке та співавт. [5]. Зазначені автори вказали, що андроморфи є найбільш звичайними морфами для 17% видів бабок Голарктики, про які є дані.

Таблиця 2

Співвідношення андроморфних і гіноморфних самиць в популяціях *I. elegans* та *C. pulchellum*

Популяція	Точка відбору	Андроморфні самиці		Гинохромные самиці		t _{st}
		N	Частка у вибірці ± середня помилка	N	Частка у вибірці ± середня помилка	
<i>I. elegans</i>	1	50	0,52 ± 0,07	47	0,48 ± 0,07	0,40
	2	57	0,66 ± 0,06	29	0,34 ± 0,09	2,96 *
<i>C. pulchellum</i>	2	22	0,25 ± 0,09	65	0,75 ± 0,05	4,57***

Примітка: * — p ≤ 0,05.

Вивчення змін співвідношення морф протягом одного сезону можливе лише в популяціях найбільш масових видів бабок з тривалим періодом льоту. Більш детальний аналіз з урахуванням співвідношення андроморфних та гіноморфних самиць у різні строки періоду льоту на прикладі однієї з вивчених популяцій *I. elegans* (точка № 1) дозволяє переконатися в тому, що андроморфні самиці у першу половину літа переважали над гіноморфними (рис. 1). З другої половини літа, на фоні різкого зниження чисельності особин в популяції, гіноморфні самиці переважали над андроморфними. Таким чином, можна вважати, що співвідношення морф — це характеристика, яка сильно варіює протягом одного сезону та, ймовірно, пов'язана із щільністю популяції.

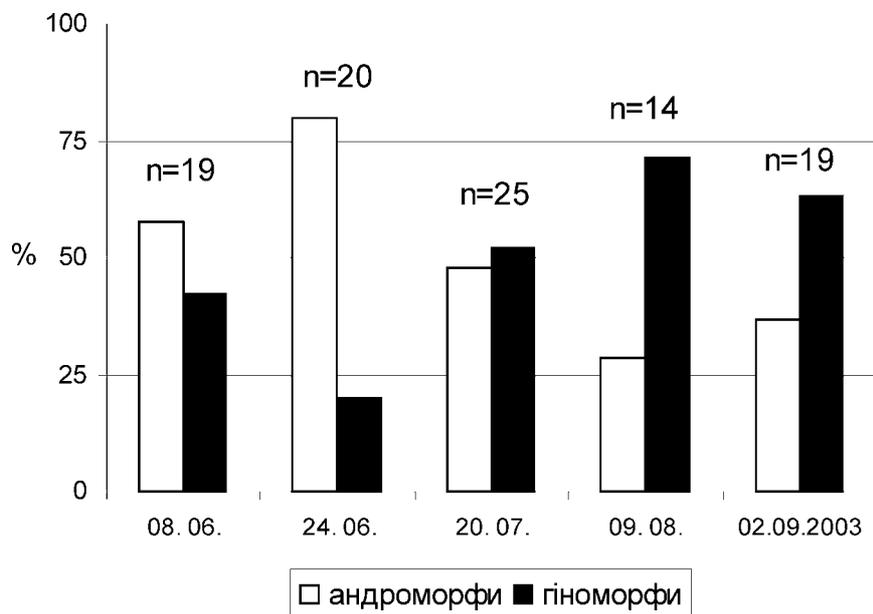


Рис. 1. Співвідношення морф самиць у популяції *I. elegans* (n — загальна кількість самиць)

Для деяких видів бабок було показано, що у співвідношенні морф самиць існують значні міжпопуляційні розбіжності. Описані окремі популяції *Nehalennia irene* (Hagen, 1861), *I. elegans*, *Lestes sponsa* (Hansemann, 1823), у яких андроморфи є найбільш звичайними. В інших віддалених популяціях цих видів найбільш масовими є гіноморфи [5]. Це добре погоджується з нашими даними щодо двох віддалених популяцій *I. elegans*, що локалізуються на південному заході України, для однієї з яких є характерним переважання андроморфних самиць, а в іншій спостерігаються рівні частки андроморф і гіноморф.

В одонатологічній літературі активно обговорюються питання про те, яким чином самці розрізняють самиць різних морф, які морфи мають перевагу при спаровуванні, а також які фактори впливають на різне співвідношення морф у віддалених популяціях. Деякі дослідники вважають, що самці переважно спаровуються з найбільш звичайною морфою самиць в популяції і змінюють цю свою поведінку лише у тому випадку, коли змінюється співвідношення морф [18–20].

Досі не до кінця з'ясованою є роль андроморфних самиць в популяціях бабок. Існує точка зору, що у деяких випадках самці сприймають андроморфних самиць як інших самців свого виду [21, 22]. Ймовірно, андроморфи мають здатність уникати зайвих парувань завдяки подібності з самцями [23]. Це не означає, що самці взагалі не спаровуються з андроморфами, але самиці достатньо одного парування для запліднення всіх яєць. Самці ж намагаються досягти найбільшої кількості копуляцій у зв'язку з тим, що вони здатні усувати сперму попереднього самця і кількість яєць, які запліднені останнім самцем, буде найбільш чисельною [24].

Причини, із-за яких різним видам "вигідніше" мати у більшості представників тих чи інших морф, до кінця не з'ясовані. Розширення кількості об'єктів і вивчення популяційних параметрів бабок, які мешкають у різних умовах, на наш погляд, допоможе вирішити це питання.

Висновки

1. Для двох модельних видів бабок *I. elegans* і *C. pulchellum* на південному заході України вперше отримана інформація про деякі популяційні параметри: статеву структуру популяцій, співвідношення різних морф самиць. Для *I. elegans* вивчена вікова структура популяцій.
2. З'ясування вікової структури популяцій *I. elegans* протягом усього періоду льоту показало постійну присутність ювенільних особин, про що свідчать вікові зміни кольору бабок.
3. В популяціях *I. elegans* та *C. pulchellum* протягом усього періоду льоту домінують самці, складаючи відповідно 67–68% і 62%.

4. У вивченій популяції *C. pulchellum* за увесь період льоту імаго найбільш звичайними є гіноморфні самиці, які складають 75% від загальної кількості самиць. Для *I. elegans* в одній популяції співвідношення двох морф було однаковим, а в іншій популяції андроморфні самиці склали 66%, кількісно переважаючи гіноморф.

Література

1. Майр Э. Популяции, виды и эволюция. — М.: Мир, 1974. — 450 с.
2. Askew R. R. The Dragonflies of Europe (revised edition). — Colchester: Harley Books, 2004. — 308 p.
3. Corbet P. S. Dragonflies: Behaviour and Ecology of Odonata. — Great Horkeley: Harley Books, 1999. — 830 p.
4. Fincke O. M. Polymorphic signals of harassed female odonates and the males that learn them support a novel frequency-dependent model // Animal Behaviour. — 2004. — Vol. 67. — P. 833–845.
5. The evolution and frequency of female color morphs in Holarctic Odonata: why are male-like females typically the minority / O. M. Fincke, R. Jodicke, D. R. Paulson, T. D. Schultz // International Journal of Odonatology. — Vol. 8 (2). — 2005. — P. 183–212.
6. Johnson C. The inheritance of the female dimorphism in the damselfly *Ischnura damula* // Genetics. — 1964. — Vol. 49. — P. 513–519.
7. Johnson C. Genetics of female dimorphism in *Ischnura demorsa* // Heredity. — 1996. — Vol. 21. — P. 453–459.
8. Cordero A. The inheritance of female polymorphism in the damselfly *Ischnura graellsii* (Rambur) (Odonata: Coenagrionidae) // Heredity. — 1990. — Vol. 64. — P. 341–346.
9. Cordero A., Andrés J. A. Colour polymorphism in odonates: females that mimic males? // J. Br. Dragonfly Soc. — 1996. — Vol. 12. — P. 50–60.
10. Gorb S. N. Visual cues in mate recognition by males of the damselfly *Coenagrion puella* (L.) (Odonata: Coenagrionidae) // Journal of Insect Behavior. — 1998. — Vol. 11. — P. 73–92.
11. Gorb S. N. Visual cues in mate recognition in the damselfly *Ischnura elegans* (Zygoptera: Coenagrionidae) // Int. J. Odonatol. — 1999. — Vol. 2. — P. 83–93.
12. Дятлова Е. С. Полиморфизм окраски и возрастная структура популяции *Ischnura elegans* (v. d. Linden, 1823) (Insecta: Odonata) // Природничі науки на межі століть: Тези доп. науково-практичної конференції до 70-річчя природничо-географічного факультету НДПУ, (23–25 березня 2004 р.). — Нежин, 2004а. — С. 33.
13. Дятлова О. С. Структура поліморфної популяції *Ischnura elegans* (v. d. Linden, 1823) (Insecta: Odonata) з пониззя Хаджибейського лиману // Сучасні проблеми зоологічної науки: Мат. Всеукраїнської наук. конф. — К.: Київський університет, 2004б. — С. 52–54.
14. Дятлова Е. С. Новые сведения о фауне стрекоз (Insecta: Odonata) Придунайского региона // Современные проблемы зоологии и экологии: Мат. междунар. конф., посвященной 140-летию основания Одесского национального университета им. И. И. Мечникова, кафедры зоологии ОНУ, Зоологического музея ОНУ и 120 годовщине со дня рождения Заслуженного деятеля науки УССР, профессора И. И. Пузанова. — О.: Феникс, 2005. — С. 81–84.
15. Милованов А. Э., Злотин А. З. Частоты фенотипов в синтопических популяциях *Colias hyale* Linnaeus, 1758 и *Colias alfacariensis* Ribbe, 1905 (Lepidoptera: Pieridae) в Крыму и принцип "золотого сечения" // Известия Харьковского энтомологического общества. — Т. 11, вып. 1–2. — 2003. — С. 169–176.
16. Горб С. Н., Павлюк Р. С., Спурис З. Д. Стрекозы (Odonata) Украины: фаунистический обзор // Вестник зоологии. — 2000. — Отд. вып. № 15. — 155 с.

17. Лакин Г. Ф. Биометрия: Учеб. пособие биол. спец. вузов. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
18. Miller M. N., Fincke O. M. Cues for mate recognition and the effect of prior experience on mate recognition in *Enallagma damselflies* // Journal of Insect Behavior. — 1999. — Vol. 12. — P. 801–814.
19. Van Gossum H., Stoks R., De Bruyn L. Discriminative mate choice in relation with female maturation in *Ischnura elegans* (Odonata: Coenagrionidae) // International Journal of Odonatology. — 2001a. — Vol. 4. — P. 83–91.
20. Van Gossum H., Stoks R., De Bruyn L. Reversible frequency-dependent switches in male mate choice // Proceedings of the Royal Society of London (B). — 2001b. — Vol. 268. — P. 83–85.
21. Robertson H. M. Female dimorphism and mating behaviour in a damselfly, *Ischnura ramburii*: females mimicking males // Animal Behaviour. — 1985. — Vol. 33. — P. 805–809.
22. Hinnekint B. O. N. Population dynamics of *Ischnura e. elegans* (Vander Linden) (Insecta: Odonata) with special reference to morphological colour change, female polymorphism, multiannual cycles and their influence on behaviour // Hydrobiologia. — 1987. — Vol. 146. — P. 3–31.
23. Cordero A., Carbone S., Utzeri C. Mating opportunities and mating costs are reduced in androchrome female damselflies *Ischnura elegans* (Odonata) // Animal Behaviour. — 1998. — Vol. 55. — P. 185–197.
24. Cooper G., Holland P. W. H., Miller P. I. Captive breeding of *Ischnura elegans* (Vander Linden): observations on longevity, copulation and oviposition (Zygoptera: Coenagrionidae) // Odonatologica. — 1996. — Vol. 25 (3). — P. 261–273.

Е. С. Дятлова

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

ОСОБЕННОСТИ ПОЛИМОРФНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ СТРЕКОЗ (INSECTA, ODONATA) ЮГО-ЗАПАДА УКРАИНЫ

Резюме

Впервые изучены популяционные характеристики двух модельных видов стрекоз юго-запада Украины: *Coenagrion pulchellum* (Vander Linden, 1825) и *Ischnura elegans* (Vander Linden, 1820). Получены данные по фенологии лета стрекоз и половой структуре популяций. В двух популяциях *I. elegans* в течение всего периода лета постоянно присутствовали ювенильные особи. Изучено соотношение гиниморф и андриморф самок в популяциях изучаемых видов стрекоз. Показано, что на юго-западе Украины андриморфные самки *C. pulchellum* составляли 25%. В двух изученных популяциях *I. elegans* андриморфные самки составляли соответственно 52% и 66%.

Ключевые слова: стрекозы, полиморфизм самок, юго-запад Украины, Odonata.

E. S. Dyatlova

Odessa National University after I. I. Mechnikov,
Department of Zoology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

**PECULIARITIES OF POLYMORPHIC POPULATIONS OF
DRAGONFLIES (INSECTA, ODONATA) IN THE SOUTH-WESTERN
UKRAINE**

Summary

Population characteristics of two model damselflies species *Coenagrion pulchellum* (Vander Linden, 1825) and *Ischnura elegans* (Vander Linden, 1825) have been studied in the South-Western Ukraine for the first time. Data on phenology, sexual and age structures of populations have been obtained. During all the flight period the juvenile specimens were continually registered in two populations of *I. elegans*. The ratio of gynomorphic and andromorphic females has been studied in populations of two model species. It was demonstrated that in the South-Western Ukraine andromorphic females of *C. pulchellum* were presented by 25%. In two populations of *I. elegans* andromorphic females were presented correspondingly by 52% and 66%.

Keywords: dragonflies, female polymorphism, South-Western Ukraine, Odonata.

УДК 595.42

Д. А. Ківганов, канд. біол., наук, доц., С. Я. Бурдейна, асп.,
В. П. Стойловський, д-р біол. наук, проф., зав. кафедри зоології
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра зоології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ПІР'ЯНІ КЛІЩІ РОДУ *PROCTOPHYLLODES* ROBIN, 1868 (*ACARI: PROCTOPHYLLODIDAE*) ПТАХІВ, ЩО МІГРУЮТЬ ЧЕРЕЗ ОСТРІВ ЗМІЇНИЙ

Протягом 2003–2005 рр. на острові Зміїний відловлено більше 5 тис. птахів 96 видів. З 27 видів птахів (26 видів горобиних та 1 кулика-слукви) зібрано 1370 екземплярів 30 видів кліщів роду *Proctophyllodes*. П'ять видів кліщів відрізняються від описаних у літературі. Встановлено, що екстенсивність зараженості кліщами восени нижча, ніж навесні, що пояснюється міграцією восени переважно молодих птахів, які ще не заражені. Інтенсивність зараженості більшості птахів виявилася низькою (одиниці чи десятки кліщів).
Ключові слова: пір'яні кліщі, острів Зміїний, *Proctophyllodes*.

Одними з найбільш поширеніших пір'яних кліщів на горобиних птахів є кліщі роду *Proctophyllodes* Robin, 1868. Підсумком більш ніж столітнього вивчення цих кліщів стала опублікована в 1966 році Ейтіо та Браашем (Atyeo, Braasch) монографія з описом усіх відомих на той час видів роду світової фауни [1].

На території колишнього Радянського Союзу дослідження цього роду кліщів пов'язані, насамперед, з іменами С. В. Миронова, Р. П. Шуміло та П. А. Чирова [2–10]. Ряд робіт присвячений окремим представникам цього роду, виявленим у Європі [11–14].

Разом з тим, рід *Proctophyllodes* поки що не можна назвати вивченим з кількох причин: 1) до цих пір залишився необстеженим ряд горобиних птахів; 2) на деяких видах птахів може жити кілька видів проктофіллодесів; 3) види, розповсюджені на багатьох видах птахів, можуть бути комплексом близьких видів.

Дане дослідження проведене в межах НДР №Ф7/ 190-2004, № 356 та № 392, присвячених вивченню острова Зміїний.

Матеріали й методи

Даний матеріал зібрано в 2003–2005 рр. під час експедицій доц. кафедри зоології Ківганова Д. А. на о. Зміїний. Птахів відловлювали за допомогою 5–6 павутинних сіток, які були встановлені у вищій частині острова, біля маяка. Також птахів відловлювали вручну на ночівлях.

Усіх птахів досліджували на наявність кліщів. Реєстрували не тільки їхню присутність, але й інтенсивність зараження ними опухал махового пір'я.

Для визначення видової належності кліщів їх збирали вибірково з декількох особин птахів кожного виду, по можливості — в різні сезони та в різні роки. Збір кліщів проводили шляхом огляду оперення птахів під біноклярною лупою. Зібраних членистоногих фіксували в 70° етиловому спирті й етикетували. Птахів після огляду або збору паразитів кільцювали й випускали. Препарати виготовляли за загальноприйнятими для цієї групи методиками шляхом заключення кліщів у рідину Фора-Берлізе.

Усього оглянуто більше 5 тисяч птахів 96 видів; на представниках 27 видів виявлено й зібрано 1370 екземплярів пір'яних кліщів роду *Proctophyllodes*, яких ми віднесли до 30 видів.

Результати досліджень і їхнє обговорення

Основними хазяями кліщів роду *Proctophyllodes* є горобині птахи (*Passeriformes*). Незначне число цих кліщів також живуть на гусеподібних (*Anseriformes*), сивкоподібних (*Charadriiformes*), совоподібних (*Strigiformes*), серпокрильцеподібних (*Apodiformes*) та дятлоподібних (*Piciformes*) [1].

У наших зборах на о. Зміїний переважна більшість представників проктофіллодід була зібрана з горобиних птахів та один вид — з кулика-слукви (табл. 1).

Таблиця 1

Пір'яні кліщі роду *Proctophyllodes* з птахів, що мігрували через о. Зміїний у 2003–2005 рр.

Птах-хазяїн	Кліщі	
	літературні дані	наші дані
Ряд ГОРОБЦЕПОДІБНІ PASSERIFORMES		
Родина Плискові Motacillidae		
Щеврик червоногрудий <i>Anthus cervinus</i>	<i>Pr. arcticus</i> [1]	<i>Pr. anthi</i>
Щеврик лучний <i>An. pratensis</i>	<i>Pr. anthi</i> [1]	<i>Pr. spl</i>
Щеврик лісовий <i>An. trivialis</i>	<i>Pr. anthi</i> [1, 2], <i>Pr. poulani</i> [1]	<i>Pr. anthi</i>
Плиска біла <i>Motacilla alba</i>	<i>Pr. motacillae</i> [1, 8]	<i>Pr. motacillae</i>
Плиска чорноголова <i>M. feldegg</i>		<i>Pr. motacillae</i>
Плиска жовта <i>M. flava</i>	<i>Pr. motacillae</i> [1, 2, 8], <i>Pr. macedo</i> [1, 8]	<i>Pr. motacillae</i> , <i>Pr. macedo</i>

Продовження таблиці 1

Птах-хазяїн	Кліщі	
	літературні дані	наші дані
Родина Сорокопудові <i>Laniidae</i>		
Сорокопуд чорнолобий <i>Lanius minor</i>	<i>Pr. leptocaulus</i> [1, 8, 12]	<i>Pr. leptocaulus</i>
Сорокопуд терновий <i>L. colurio</i>	<i>Pr. leptocaulus</i> [1, 8]	<i>Pr. leptocaulus</i>
Родина Вивільгові <i>Oriolidae</i>		
Вивільга <i>Oriolus oriolus</i>		<i>Pr. sp2</i>
Родина Шпакові <i>Sturnidae</i>		
Шпак звичайний <i>Sturnus vulgaris</i>		
Родина Волові очка <i>Troglodytidae</i>		
Волове очко <i>Troglodytes troglodytes</i>		<i>Pr. stylifer</i> *
Родина Кропив'янкові <i>Sylviidae</i>		
Кобилочка річкова <i>Locustella fluviatilis</i>	<i>Pr. locustelae</i> [5]	<i>Pr. clavatus</i>
Кобилочка солов'їна <i>L. luscinioides</i>	<i>Pr. clavatus</i> [1]	<i>Pr. clavatus</i>
Очеретянка велика <i>Acrocephalus arundinaceus</i>		<i>Pr. sp3</i>
Очеретянка лучна <i>A. schoenobaenus</i>	<i>Pr. clavatus</i> [1]	<i>Pr. clavatus</i>
Очеретянка чагарникова <i>A. palustris</i>	<i>Pr. vassilevi</i> [1]	<i>Pr. vassilevi</i>
Берестянка звичайна <i>Hippolaris icterina</i>	<i>Pr. icterina</i> [14]	<i>Pr. icterina</i>
Кропив'янка садова <i>Sylvia borin</i>	<i>Pr. clavatus</i> [2], <i>Pr. anthi</i> [1]	<i>Pr. clavatus</i>
Кропив'янка сіра <i>S. communis</i>		<i>Pr. clavatus</i>
Кропив'янка чорноголова <i>S. atricapilla</i>	<i>Pr. sylviae</i> [1, 2, 8]	<i>Pr. sylviae</i>
Кропив'янка прудка <i>S. curruca</i>	<i>Pr. clavatus</i> [1]	<i>Pr. clavatus</i>
Кропив'янка рябогруда <i>S. nisoria</i>	<i>Pr. clavatus</i> [1]	<i>Pr. clavatus</i>
Вівчарик весняний <i>Phylloscopus trochilus</i>	<i>Pr. doleophyes</i> [2, 8], <i>Pr. reguli</i> [1]	<i>Pr. doleophyes</i>
Вівчарик-ковалик <i>Ph. collybita</i>		<i>Pr. doleophyes</i>
Вівчарик жовтобровий <i>Ph. sibilatrix</i>	<i>Pr. doleophyes</i> [1, 8, 12]	<i>Pr. doleophyes</i>
Родина Золотомушкові <i>Regulidae</i>		
Золотомушка жовточуба <i>Regulus regulus</i>	<i>Pr. reguli</i> [1,8]	<i>Pr. reguli</i>
Золотомушка червоначуба <i>R. ignicapillus</i>	<i>Pr. reguli</i> [1]	<i>Pr. sp4</i>

Птах-хазяїн	Кліщі	
	літературні дані	наші дані
Родина Мухоловкові <i>Muscicapidae</i>		
Мухоловка сіра <i>Muscicapa striata</i>	<i>Pr. doleophyes</i> [1], <i>Pr. acanthicaulus</i> [1, 2, 12]	<i>Pr. acanthicalus</i>
Мухоловка мала <i>Ficedula parva</i>	<i>Pr. doleophyes</i> [2, 8], <i>Pr. acanthicaulus</i> [8]	<i>Pr. sp5</i>
Мухоловка білошия <i>F. albicollis</i>		<i>Pr. doleophyes</i>
Мухоловка строката <i>F. hypoleuca</i>	<i>Pr. doleophyes</i> [1, 2, 8, 11]	<i>Pr. doleophyes</i>
Трав'янка лучна <i>Saxicola rubetra</i>	<i>Pr. hipposideros</i> [1, 2], <i>Pr. cotyledon</i> [1]	<i>Pr. hipposideros</i>
Кам'янка попеляста <i>Oenanthe isabellina</i>		<i>Pr. hipposideros</i>
Кам'янка лиса <i>O. pleschanca</i>		<i>Pr. hipposideros</i>
Горихвістка чорна <i>Phoenicurus ochruros</i>	<i>Pr. cotyledon</i> [1]	<i>Pr. cotyledon</i>
Горихвістка звичайна <i>P. phoenicurus</i>	<i>Pr. doleophyes</i> [2], <i>Pr. mesocaulus</i> [12]	<i>Pr. mesocaulus</i> , <i>Pr. cotyledon</i>
Вільшанка <i>Erithacus rubecula</i>	<i>Pr. rubeculinus</i> [1]	<i>Pr. rubeculinus</i>
Соловейко східний <i>Luscinia luscinia</i>	<i>Pr. doleophyes</i> [2, 7]	<i>Pr. sp3</i>
Соловейко західний <i>L. megarhynchos</i>	<i>Pr. doleophyes</i> [1, 12]	<i>Pr. sp3</i>
Синьошийка <i>Luscinia svecica</i>	<i>Pr. caulifer</i> [1]	<i>Pr. caulifer</i>
Дрізд співочий <i>Turdus philomelos</i>	<i>Pr. musicus</i> [1, 2, 8]	<i>Pr. musicus</i>
Дрізд чорний <i>T. merula</i>	<i>Pr. musicus</i> , <i>Pr. weigoldi</i> [1, 2, 8, 11], <i>Pr. euryurus</i> [1, 8, 11]	<i>Pr. musicus</i> , <i>Pr. weigoldi</i>
Дрізд-омелюх <i>T. viscivorus</i>	<i>Pr. musicus</i> , <i>Pr. tenericaulus</i> [1, 8]	<i>Pr. tenericaulus</i>
Родина Синицеві <i>Paridae</i>		
Синиця блакитна <i>Parus caeruleus</i>	<i>Pr. stylifer</i> [1, 2, 7]	<i>Pr. stylifer</i>
Синиця велика <i>P. major</i>	<i>Pr. stylifer</i> [1, 2, 7, 8, 11]	<i>Pr. stylifer</i>
Родина В'юркові <i>Fringillidae</i>		
Зеленяк <i>Chloris chloris</i>	<i>Pr. pinnatus</i> [1, 2, 8, 11], <i>Pr. glandarinus</i> [1, 8, 11]	<i>Pr. pinnatus</i>
Чиж <i>Spinus spinus</i>	<i>Pr. spini</i> [2], <i>Pr. pinnatus</i> [1, 2]	<i>Pr. pinnatus</i>
Снігур <i>Pyrrhula pyrrhula</i>	<i>Pr. glandarinus</i> , <i>Pr. stylifer</i> [1]	<i>Pr. glandarinus</i>
Костогриз <i>Coccothraustes coccothraustes</i>	<i>Pr. pinnatus</i> , <i>Pr. glandarinus</i> [1]	<i>Pr. glandarinus</i>

Птах-хазяїн	Кліщі	
	літературні дані	наші дані
Родина Вівсянкові <i>Emberizidae</i>		
Вівсянка садова <i>Emberiza hortulana</i>	<i>Pr. emberizae</i> , <i>Pr. glandarinus</i> , <i>Pr. anthi</i> , <i>Pr. miliariae</i> [1, 8]	<i>Pr. emberizae</i> , <i>Pr. glandarinus</i>
Вівсянка звичайна <i>E. citrinella</i>	<i>Pr. ciae</i> [2], <i>Pr. glandarinus</i> [1], <i>Pr. miliariae</i> [1, 12]	<i>Pr. ciae</i>
Вівсянка чорноголова <i>E. melanocephala</i>	<i>Pr. emberizae</i> [1]	<i>Pr. emberizae</i>
Ряд СИВКОПОДІБНІ <i>CHARADRIIFORMES</i>		
Родина Баранцеві <i>Scolopacidae</i>		
Слуква <i>Scolopax rusticola</i>	<i>Pr. scolopacinus</i> [1]	<i>Pr. scolopacinus</i>

Примітка: * Цікаво, що В. Ейтю, аналізуючи колекцію кліщів Труессарта (Trouessart) виявив *Pr. stylifer* у матеріалі, зібраному з волового очка з Франції, однак вирішив, що це є результатом неправильного визначення птаха-хазяїна [1].

При аналізі матеріалу нами було виявлено кілька видів кліщів, достовірно визначити яких ми не змогли. Вид *Pr. sp1*, виявлений на щеврику лучному, ближче всього до виду *Pr. poublani*, однак має трохи більші розміри тіла та менші термінальні ламелли у самців. Виявлений на вивільзі *Oriolus oriolus* кліщ *Pr. sp2* близький до виду *Pr. dasyxiphus*, описаному з південноафриканської вивільги *Oriolus larvatus*, однак відрізняється від нього більшим за розміром генітальним органом, що сягає кінця генітальної арки, а також близько розташованими між собою основами термінальних ламелл. На очеретянці великій, соловейках західному та східному був виявлений вид *Pr. sp3*, близький до виду *Pr. doleophyes*, однак такий, що відрізняється від нього меншими розмірами генітального апарату. На золотомушці червоночубій ми виявили вид *Pr. sp4*, схожий на *Pr. polyxenus*, який відомий з великої кількості американських птахів, але невідомий щодо птахів Європи. На мухоловці малій виявлено вид *Pr. sp5*, що за деякими ознаками близький до *Pr. doleophyes*, а за іншими — до *Pr. caulifer*. Цілком вірогідно, що після подальшого вивчення цих п'яти видів роду *Proctophyllodes*, вони можуть бути описані як нові для науки.

Як уже зазначалося, ми проводили облік інтенсивності й екстенсивності зараженості птахів п'яними кліщами роду *Proctophyllodes*. Екстенсивність зараженості варіювала в досить широких межах (табл. 2, 3) і відрізнялась весною та восени.

Наведені дані можна пояснити тим, що навесні та восени в багатьох птахів міграційні шляхи не є ідентичними. У значній кількості досліджуваних нами птахів в мігруючих зграях переважали особи першого року. Дорослих було значно менше, хоч навесні вони у великій кількості мігрували через острів. Так, наприклад, найбільш масовий вид — вільшанка *Erithacus rubecula* — був представлений переважно молодими особинами (першого року) і тому екстенсивність зараженості п'яними кліщами виявилася досить низь-

кою. В протилежність цьому птахи, представлені у верхній частині таблиці (по волове очко *Troglodytes troglodytes* включно), в період міграції були переважно дорослими і тому більш зараженими.

Таблиця 2

Екстенсивність зараженості пір'яними кліщами роду *Proctophyllodes* масових видів птахів, що мігрували через о. Зміїний восени 2003 р.

Вид птаха	Усього оглянуто птахів, екз.	Екстенсивність зараженості, %
<i>Phoenicurus ochrurus</i>	39	53,8
<i>Regulus regulus</i>	38	47,4
<i>Phoenicurus phoenicurus</i>	33	45,5
<i>Turdus merula</i>	32	37,5
<i>Troglodytes troglodytes</i>	140	37,1
<i>Ficedula parva</i>	38	18,4
<i>Erithacus rubecula</i>	1034	15,2
<i>Phylloscopus collybita</i>	243	9,9
<i>Turdus philomelos</i>	94	5,3

Таблиця 3

Екстенсивність зараженості пір'яними кліщами роду *Proctophyllodes* масових видів птахів, що мігрували через о. Зміїний навесні 2004 р.

Вид птаха	Усього оглянуто птахів, екз.	Екстенсивність зараженості, %
<i>Turdus philomelos</i>	149	88,6
<i>Sylvia curruca</i>	59	83,1
<i>Phylloscopus collybita</i>	354	80,8
<i>Muscicapa parva</i>	846	74,5
<i>Sylvia communis</i>	27	74,1
<i>Erithacus rubecula</i>	1215	70,4
<i>Phylloscopus trochilus</i>	326	62,3
<i>Lanius collurio</i>	32	56,3
<i>Regulus regulus</i>	79	44,3
<i>Turdus merula</i>	25	44,0
<i>Sylvia borin</i>	67	41,8
<i>Phoenicurus phoenicurus</i>	270	41,1
<i>Saxicola rubetra</i>	18	38,9
<i>Hippolaris icterina</i>	11	36,4
<i>Muscicapa striata</i>	61	32,8
<i>Motacilla alba</i>	14	21,4
<i>Troglodytes troglodytes</i>	135	18,5
<i>Prunella modularis</i>	23	17,4
<i>Phoenicurus ochruros</i>	110	11,8
<i>Spinus spinus</i>	25	8,0
<i>Fringilla coelebs</i>	39	7,7

Наведені в таблиці 3 показники екстенсивності зараженості є значно вищими, ніж в таблиці 2, що можна пояснити тим, що навесні в міграційному потоці перебувають птахи, які мають вік щонайменше півроку й які могли заразитися кліщами від своїх родичів.

Інтенсивність зараженості більшості птахів була не досить високою. Переважала інтенсивність з декількох десятків особин кліщів на кожному крилі птаха. Найбільш зараженою кліщами роду *Proctophyllodes* виявилася кропив'янка чорноголова *Sylvia atricapilla* — кількість кліщів на її крилах вимірювалася сотнями.

Висновки

1. В 2003–2005 рр. на 26 видах горобиних птахів і одному виді куликів, що мігрують через острів Зміїний, виявлено 30 видів пір'яних кліщів роду *Proctophyllodes*.
2. П'ять видів кліщів роду *Proctophyllodes* мають діагностичні ознаки, що не збігаються з відомими в літературі видами й, можливо, є новими для науки.
3. Екстенсивність зараженості птахів кліщами роду *Proctophyllodes* навесні значно вища, ніж восени, що пояснюється міграцією восени значного числа птахів першого року життя, які ще не заражені ектопаразитами.
4. Інтенсивність зараженості кліщами роду *Proctophyllodes* більшості обстежених птахів виявилася низькою (одиниці або десятки екземплярів). Найбільш зараженою виявилася кропив'янка чорноголова *Sylvia atricapilla*.

Література

1. Atyeo W. T., Braasch N. K. The Feather Mite Genus *Proctophyllodes* (Sarcoptiformes: Proctophyllodidae) // Bulletin of the University of Nebraska State Museum. — 1966. — Vol. 5. — 354 p.
2. Бочков А. В., Миронов С. В., Стекольников А. А. Акариформные клещи (Acariformes) // Биоразнообразие и редкие виды национального парка "Себежский". Публикации Санкт-Петербургского общества натуралистов / Под ред. С. А. Фетисова, Г. Ю. Конечной. — С.Пб., Изд-во С.-Пб. ГУ, 2001. — Сер. 6, т. 4. — С. 109–112.
3. Миронов С. В. Перьевые клещи воробьиных северо-запада Европейской части СССР. — Автореф. дис... канд. биол. наук. — Л., 1984. — 23 с.
4. Чиров П. А., Миронов С. В. Два новых вида рода *Proctophyllodes* (Analgoidea, Proctophyllodidae) из Киргизии // Известия АН Киргизской ССР. — 1984. — № 4. — С. 43–46.
5. Чиров П. А., Миронов С. В. Новые и малоизвестные виды перьевых клещей с воробьиных птиц Киргизии // Известия АН Киргизской ССР. — 1987. — Хим.-технол. науки, № 3. — С. 48–51.
6. Шумило Р. П. Акарофауна синантропных птиц и ее практическое значение // Паразиты животных и растений. — Кишинев: Штиинца, 1965. — Вып. 1. — С. 131–142.
7. Шумило Р. П., Лоянич А. А. Клещи подотряда *Sarcoptiformes* от синиц Модавии // Паразиты животных и растений. — М., 1968. — Вып. 4. — С. 199–209.

8. Шумило Р. П., Миронов С. В. Перьевые клещи воробьиных (*Passeriformes*) юго-запада Европейской части СССР // Паразиты и паразитоценозы животных и растений Днестровско-Прутского междуречья. — Кишинев: Штиинца, 1987. — С. 139–152.
9. Шумило Р. П., Тихон Е. И. Клещи *Proctophyllodidae* (*Acariformes: Analgoidea*) жаворонков Молдавии // Известия АН МССР. — 1972. — Сер. биол. и хим. наук, № 4. — С. 57–61.
10. Шумило Р. П., Черны В. В., Тихон Е. И. Перьевые клещи (*Acariformes: Analgoidea*) диких сухопутных птиц Молдавии и Черновицкой области Украины // Паразиты животных и растений. — Кишинев: Штиинца, 1973. — Вып. 9. — С. 192–206.
11. Cerny V. Zur Kenntnis der Federmilben (*Arach., Acar.*) von schweizerischen Vögeln // Mitteil. der Schweiz. Entomol. Gesellschaft. — 1971. — D. 44, h. 3–4. — С. 285–298.
12. Mack-Firă V., Cristea-Năstăsescu M. Proctophyllodide (*Analgoidea*) din fauna României // Analele Universitatii Bucuresti. — 1968. — An. XVII, ser. biologie. — P. 35–43.
13. Estudio de siete especies del genero *Proctophyllodes* Robin, 1877 (*Acarina, Proctophyllodidae*) parasitas de aves passeriformes españolas / M. Rojas, J. M. Ubeda, D. C. Guevara, C. Ariza // Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat. — 1991. — Vol. 87, № 1–4, sec. biol. — P. 35–44.
14. Zullot T., Manilla G. *Proctophyllodes icterina* n. sp. (*Analgoidea, Proctophyllodidae*) parasita del canarina maggiore (*Passeriformes*) // Rivista Di Parassitologia. — 1992. — Vol. IX (LIII), № 3. — P. 271–275.

Д. А. Кивганов, С. Я. Бурдейная, В. П. Стойловский

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,
кафедра зоологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

**ПЕРЬЕВЫЕ КЛЕЩИ РОДА *PROCTOPHYLLODES* ROBIN, 1868
(*ACARI: PROCTOPHYLLODIDAE*) ПТИЦ, МИГРИРУЮЩИХ ЧЕРЕЗ
ОСТРОВ ЗМЕИНЫЙ**

Резюме

На протяжении 2003–2005 гг. на острове Змеиный (Украина, Черное море) отловлено больше 5 тыс. птиц 96 видов. Из 27 видов этих птиц (26 видов воробьиных и 1 кулика-вальдшнепа) собрано 1370 экземпляров 30 видов клещей рода *Proctophyllodes*. Пять видов клещей отличаются от видов, описанных в литературе. Экстенсивность зараженности клещами осенью ниже, чем весной, что объясняется миграцией осенью значительного числа молодых птиц. Интенсивность зараженности большинства птиц оказалась низкой (единицы или десятки клещей).

Ключевые слова: перьевые клещи, остров Змеиный, *Proctophyllodes*.

D. A. Kivganov, S. Ya. Burdeyna, V. P. Stoylovsky

Odessa National University by I. I. Mechnikov,
Zoological Department,
Dvoryanska St., 2, Odesa, 65026, Ukraine

**FEATHER MITES OF THE GENUS PROCTOPHYLLODES ROBIN,
1868 (ACARI: PROCTOPHYLLODIDAE) OF THE BIRDS MIGRATING
THROUGH THE ISLAND ZMEINY**

Summary

It was caught more than 5 thousand birds of 96 species on the island Zmeiny (Ukraine, The Black Sea) during the period 2003–2005. 1370 specimens of 30 species of mites of genus *Proctophylodes* on 27 species of birds (26 passeriform species and 1 wader — woodcock) have been collected. Five species of the mites differ from the species described in the literature. Extensiveness of mites contamination in autumn is lower, than in spring, it can be explained migrating of the significant number of young birds. Contamination intensity of the majority of birds turned to appeared low (units or tens of mites).

Keywords: feather mites, the island Zmeiny, *Proctophylodes*.

УДК 594

М. О. Сон, асп.

Одеський філіал Інституту біології південних морів НАН України,
відділ якості водного середовища,
вул. Пушкінська, 37, Одеса, 65011, Україна; e-mail: michail.son@gmail.com

НАПРЯМКИ ЕКСПАНСІЇ НЕЕНДЕМІЧНИХ ВИДІВ МОЛЮСКІВ У ВНУТРІШНІ ВОДИ УКРАЇНИ

Встановлені основні напрямки інвазії молюсків-вселенців у внутрішні води України. Спостерігається як проникнення екзотичних видів в Україну, так і обмін видами між різними регіонами країни. Ріки Дунай і Дніпро, а також ланцюжок прибережних водойм узбережжя Чорного та Азовського морів є важливими коридорами інвазії.

Ключові слова: молюски, вселенці, коридори інвазії.

На сучасному етапі еволюції біосфери антропогенні зміни зоогеографічних бар'єрів призводять до регулярної появи в регіональних екосистемах вселенців та їх розселенню. За наявності у певному регіоні великої кількості інвазійних видів можна, як правило, виявити шляхи проникнення та подальшого розселення видів-вселенців (інвазійні коридори).

Метою даної роботи було встановлення основних напрямків експансії водних молюсків у внутрішні води України.

Матеріали і методи досліджень

Значна частина фактів, що аналізуються, була отримана в результаті власних досліджень, які проводилися протягом 1999–2005 рр. Досліджували фауну молюсків річних басейнів Чорного та Азовського морів, включаючи озера та лимани узбережжя, штучні водойми. Обробляли фонди зоологічного музею Одеського національного університету ім. І. І. Мечникова, Державного природничого музею НАНУ, Дунайського біосферного заповідника НАНУ, а також матеріали з різних районів України, які люб'язно були надані нам О. В. Волошкевич, В. Г. Дядичко, О. С. Дятловою, І. О. Синьогубом, В. А. Трачем, за що ми їм щиро вдячні. Матеріал збирали та обробляли за допомогою стандартних методів [1]. Усього було вивчено понад сім тис. екз. молюсків.

Результати та їх обговорення

На сьогоднішній день у внутрішніх водах України реєструється велика кількість видів молюсків-вселенців, як "далеких" (головним чином азіатського та американського походження), так і "ближніх" (автохтонних для одних регіонів України і вселенців для інших). Дані про них узагальнені у табл. 1.

Таблиця 1

Молюски-вселенці у внутрішніх водах України

Вид	Вектор інвазії	Регіон-рецепієнт	Бібліографія
<i>Corbicula fluminalis</i> (Müller, 1774)	Судноплавство	Дунай	[2, 3, 4, 5, 6]
<i>C. fluminea</i> (Müller, 1774)	Судноплавство	Дунай	[3, 4, 6, 5]
<i>Dreissena bugensis</i> Andrusov, 1897	Судноплавство, канали	Водосховища, канали, Дністер, Крим	[7, 8]
<i>D. polymorpha</i> (Pallas, 1771)	Судноплавство, канали	Водосховища, канали, водойми Криму	[7, 8]
<i>Fagotia danubialis</i> Bourguignat, 1884	Канали	Крим	[9]
<i>Ferissia wautieri</i> (Mirolli, 1960)	Акваріуми	Ставки на Південному березі Криму, Дністер	[1, 5]
<i>Hypanis colorata</i> (Eichwald, 1829)	Канали	Водосховища Дніпра, канали Криму	[7]
<i>Lithoglyphus naticoides</i> (Pfeiffer, 1828)	Канали	Крим	[7]
<i>Lymnaea ovata</i> (Smith, 1889)	Канали	Крим	[7]
<i>L. stagnalis</i> (Linnaeus, 1758)	Інтродукція	Крим	[7]
<i>Physella acuta</i> (Draparnaud, 1805)	Акваріуми	Дунай	[6, 5]
<i>Physa skinneri</i> (Taylor, 1954)	Акваріуми	Дністер, Дунай, Полісся, ріки Північного Приазов'я	[10, 6, 5]
<i>Potamopyrgus jenkinsi</i> (Smith, 1889)	Зоохорія, судноплавство	Лимани і ріки північно-західного Причорномор'я	[11, 12, 6, 5]
<i>Sinanodonta woodiana</i> (Lea, 1834)	Зоохорія	Дунай	[3, 6, 5, 13]
<i>Theodoxus fluviatilis</i> (Linnaeus, 1758)	Канали	Крим	[7, 9]
<i>Turricaspia lincta</i> (Milashevitch, 1908)	Канали	Водосховища Дніпра	[7]
<i>Viviparus viviparus</i> (Linnaeus, 1758)	Канали	Крим	[7]
<i>Mytilopsis leucophaeta</i> (Conrad, 1831)	Судноплавство	Дністровський лиман	[14]

Крім видів, які зазначені в табл. 1, ряд акваріумних видів (*Physella integra* (Haldeman, 1841), *Ampularia sp.*, *Biomphalaria sp.*, *Melanoides spp.*) достатньо часто знаходять в ставках-охолоджувачах та міських декоративних водоймах, куди молюски попадають з акваріумів.

Зараз в межах України можна виділити ряд основних напрямків експансії молюсків:

1. Розселення вниз по течії Дунаю (*Sinanodonta woodiana*, *Corbicula fluminalis* и *C. fluminea*, *Physa acuta*; ймовірно, *Potamopyrgus jenkinsi*). Дунай, який має широку гідрографічну мережу, з'єднуючись каналами з багатьма іншими річковими басейнами Європи, утворює великий інвазійний коридор, який здатний транспортувати чужорідні види із значної частини європейського континенту.

2. Розселення понто-каспійських та екзотичних солонуватоводних видів вздовж узбереж континентальної України з подальшим проникненням на північ по руслах рік (*Dreissena bugensis*, *D. polymorpha*, *Turricaspia lincta*, *Hypanis pontica*, *H. colorata*, *P. jenkinsi*). Для узбережжя північно-західного Причорномор'я та Північного Приазов'я характерна наявність великої кількості лиманів, естуаріїв, річних дельт, прісних, солонуватих і солоних озер, що пов'язані на багатьох ділянках каналами. Дані водойми формують важливий інвазійний коридор для видів, які пристосовані до мешкання як у прісних, так і в солонуватих водах. Одночасно з міжбасейновими перекидами стоку річок відбувається підйом видів по руслах рік. Найбільше значним напрямком є підйом проти течії Дніпра, що пов'язано з наявністю на Дніпрі каскаду водосховищ, які надають понто-каспійським видам нормальні для них біотопи й запобігають знесенню течією планктонних личинок.

3. Вселення у води Кримського півострову мешканців континентальної України (*D. bugensis*, *D. polymorpha*, *H. colorata*, *Viviparus viviparus*, *Lithoglyphus naticoides*, *Theodoxus fluviatilis*, *Fagotia danubialis*, *Lymnaea stagnalis*, *L. ovata*). В ХХ ст. відбулося антропогенне порушення зоогеографічних бар'єрів, які довгочасно ізолювали гідрофауну Криму, що надавало їй островний характер. На фауну водних молюсків вирішальний вплив виявило будівництво Північно-Кримського каналу, завдяки якому до Криму проникла велика кількість видів молюсків з басейну Дніпра.

4. Бракеражна інтродукція акваріумних видів у відкриті природні та штучні водойми (*Physella integra*, *Physa skinneri*, *Ferissia wautieri*, *Ampularia sp.*, *Melanoides spp.*, *Biomphalaria sp.*). Достатньо частим явищем є злив води з акваріумів у природні водойми. При цьому найбільш теплолюбні види, як правило, здатні виживати в штучних водоймах, до яких скидаються термальні води, або у природних водоймах найбільш південних районів України. Ряд видів родини Physidae і вид *Ferissia wautieri*, які пристосовані до температурних умов всіх регіонів країни, легко акліматизуються в природних біотопах.

Висновки

1. У внутрішніх водах України спостерігається чотири основні напрямки експансії неендемичних молюсків (вниз по течії Дунаю, вздовж узбереж континентальної України з подальшим проникненням на північ по руслах річок, з континен-

- тальної України у води Кримського півострова, інтродукція акваріумних видів у відкриті природні та штучні водойми).
2. В експансії беруть участь як екзотичні види, так і види, які є автохтонними для окремих регіонів України.
 3. Експансія охоплює в першу чергу південні регіони країни.

Література

1. Стадниченко А. П. Прудовикообразные (пузырчиковые, витушковые, катушковые). — Фауна Украины. — Т. 29. Моллюски. — Вып. 4. — К: Наук. думка, 1990. — 292 с.
2. Волошкевич Е. В., Сон М. О. *Corbicula fluminalis* — новый вид двустворчатого моллюска для фауны Украины // Вестн. зоологии. — 2002. — Т. 36, № 6. — С. 94.
3. Сон М. О. Моллюски-вселенцы азиатского происхождения в экосистемах взморья Килийской дельты Дуная // Эволюция морских экосистем под влиянием вселенцев и искусственной смертности фауны: Тез. докл. международной конф. (Ростов-на-Дону, 16–19 июня 2003 г.). — Ростов н/Д., 2003. — С. 130–131.
4. Сон М. О. Пути преодоления зоогеографических барьеров неморскими моллюсками // Современные проблемы зоологии и экологии. — О.: Феникс, 2005. — С. 280–283.
5. Сон М. О. Invasion molluscs in Danube Delta // Aquatic Ecology at the Dawn of XXI Century. Book of abstracts, a brief G. G. Winberg's biography and bibliography. — St.-Petersburg, 2005. — P. 90.
6. Сон М. О. Моллюски-вселенцы на территории Украины: источники и направления инвазии // Чужеродные виды в Голарктике (Борок-2): Тез. докл. Второго между. Симпозиума по изучению чужеродных видов. — Рыбинск: Рыбинский Дом печати, 2005. — С. 119–120.
7. Журавель П. А., Боголюбова М. М., Загубиженко Н. И. О расселении моллюсков по водоемам Украины и Крыма через каналы, оросительные системы и трубопроводы // Моллюски и их роль в экосистемах. — Л.: Наука, 1968. — С. 29–30.
8. Харченко Т. А. Дрейссена: ареал, экология, биопомехи // Гидробиол. журн. — 1995. — Т. 31, № 3. — С. 3–21.
9. Миронов С. С., Шадрин Н. В., Гринцов В. А. Новые виды моллюсков в морских и континентальных водах Крыма // Экология моря. — 2002. — Т. 61. — С. 43.
10. Taylor D. W., Sitnikova T. Studies on Physidae (Gastropoda: Hygrophila) in Siberia, Ukraine and Mongolia // Еколого-функціональні та фауністичні аспекти дослідження моллюсків, їх роль у біоіндикації стану навколишнього середовища. — Житомир: Волинь, 2004. — С. 218–219.
11. Сон М. О. Новые сведения о расселении моллюсков рода *Potamopyrgus* // Екологічні проблеми Чорного моря. — О.: ОЦНТЕП, 2004. — С. 426–429.
12. Анистратенко В. В. Определитель гребнежаберных моллюсков (Gastropoda, Pectinibranchia) фауны Украины. — Ч. 2. Пресноводные и наземные // Вестн. зоологии. — 1998. — Отд. выпуск № 8. — С. 67–124.
13. Юришинец В. И., Корнюшин А. В. Новый для фауны Украины вид двустворчатых моллюсков *Sinanodonta woodiana* (Bivalvia, Unionidae), его диагностика и возможные пути интродукции // Вестн. зоологии. — 2001. — № 1. — С. 79–84.
14. Molecular resolution of the family Dreissenidae (Mollusca: Bivalvia) with emphasis on Ponto-Caspian species, including first report of *Mytilopsis leucophaeata* in the Black Sea basin / T. W. Therriault, M. F. Docker, M. I. Orlova, D. D. Heath, H. J. MacIsaac // Mol. Phylogenet. Evol. — 2004. — Т. 30, N 3. — P. 479–489.

М. О. Сон

Одесский филиал института биологии южных морей НАН Украины,
ул. Пушкинская, 37, Одесса, 65011, Украина

НАПРАВЛЕНИЯ ЭКСПАНСИИ НЕЭНДЕМИЧНЫХ ВИДОВ МОЛЛЮСКОВ ВО ВНУТРЕННИЕ ВОДЫ УКРАИНЫ

Резюме

Выявлены главные направления инвазии моллюсков-вселенцев во внутренних водах Украины. Наблюдается как проникновение на территорию экзотических видов, так и обмен видами между различными регионами страны. Реки Дунай и Днепр, а также цепочка прибрежных водоемов побережий Черного и Азовского морей являются важными коридорами инвазии.

Ключевые слова: моллюски, вселенцы, коридоры инвазии.

M. O. Son

Odessa Branch, Institute of Biology of Southern Seas,
National Academy of Science of Ukraine,
Pushkinskaya str., 37, Odessa, 65011, Ukraine

DIRECTIONS OF NONINDIGENOUS MOLLUSCS EXPANSION INTO THE UKRAINIAN INLAND WATERS

Summary

Main directions of nonindigenous molluscs expansion into the Ukrainian inland waters were discovered. Both the expansion of exotic species and interchange of species between different regions of Ukraine were observed. The Danube, the Dnieper and the line of reservoirs of the Azov-Black Region seaside are the important corridors of invasion. Keywords: mollusks, alien species, corridors of invasion.

Keywords: molluscs, alien species, corridors of invasion.

УДК 595.42:595.76(477/478)

В. А. Трач, асп.Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра зоології
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна, e-mail: listoed@rambler.ru

ПАРАЗИТО-ХАЗЯЇННІ ЗВ'ЯЗКИ КЛІЩІВ РОДИНИ CANESTRINIIDAE (ACARI: ASTIGMATA) В УКРАЇНІ ТА МОЛДОВІ

В Україні і Молдові визначили видовий склад та паразито-хазяїнні зв'язки кліщів родини Canestriniidae (Acari: Astigmata). Родина Canestriniidae для фауни Молдови наводиться вперше. Виявили 22 види кліщів, що мешкають на 24 видах твердокрилих (Coleoptera). Вперше як хазяїв канестриніід зареєстрували один рід — *Cychrus* (Carabidae) та 8 видів жуків: *Carabus ulrichi*, *C. excellens*, *C. besseri*, *C. irregularis*, *Cychrus semigranosus* (Carabidae), *Potosia fieberi* (Scarabaeidae), *Chrysolina fastuosa*, *Ch. polita* (Chrysomelidae).

Ключові слова: Canestriniidae, Coleoptera, Україна, Молдова, паразито-хазяїнні зв'язки.

У світі відомо більш ніж 250 видів кліщів з родини Canestriniidae (Acari, Astigmata). Всі вони є зовнішніми коменсалами або паразитами твердокрилих комах (Coleoptera). Особливістю цієї родини є те, що на відміну від багатьох родин астигматичних кліщів у них, як і у пір'яних кліщів, майже у всіх відсутня стадія гіпопуса [1]. Кліщі відомі в усіх зоогеографічних областях, окрім Неарктики. В Європі ці кліщі виявлені на великих за розміром жуках із родин турунів (Carabidae), рогаців (Lucanidae), пластинчастовусих (Scarabaeidae), чорнотілок (Tenebrionidae), вусачів (Cerambycidae), листоїдів (Chrysomelidae). Частіше вони локалізуються у субелітральній порожнині, рідше трапляються на тілі, кінцівках жуків. Є лише три опубліковані праці, що містять інформацію про канестриніід фауни України [2, 3, 4], зведених даних про паразито-хазяїнні зв'язки досі не було. У Палеарктиці відомо біля 60 видів родини Canestriniidae. В Україні, до початку наших досліджень, було відомо 12 видів, майже всі вони були виявлені тільки у Криму. На території Молдови кліщів цієї родини раніше не знаходили. Метою даної праці було визначення видового складу та паразито-хазяїнних зв'язків кліщів-канестриніід на території України та Молдови.

Матеріал та методики досліджень

Основою для даного повідомлення є насамперед особисті збори автора, що проводилися з 2000 по 2005 рр. у багатьох регіонах обох країн, а також матеріал, наданий колегами-ентомологами.

Жуків збирали за стандартними методиками: маршрутний збір, пастки Барбера, косіння сачком. Основну увагу надавали жукам з родів, на яких знаходили канестриніід у Європі: *Carabus*, *Calosoma* (Carabidae), *Dorcus* (Lucanidae), *Pentodon*, *Potosia* (Scarabaeidae), *Blaps*, *Gnaptor* (Tenebrionidae), *Cerambyx* (Cerambycidae), *Timarcha*, *Chrysolina* (Chrysomelidae). Окрім представників цих родів, були вивчені і інші великі за розміром жуки з цих та інших родин. Зібраних жуків вивчали з допомогою бінокулярного мікроскопа, препарати кліщів виготовляли за стандартною методикою з використанням молочної кислоти та рідини Фора-Берлезе. Оглянуто біля 600 екземплярів твердокрилих 90 видів, що складає біля 2/3 усіх можливих хазяїв кліщів на досліджуваних територіях. Більша частина ентомологічного матеріалу зберігається в особистій колекції автора; препарати кліщів — у колекції кафедри зоології.

Результати та обговорення

В ході досліджень нами виявлено 22 види кліщів родини Canestriniidae на 24 видах твердокрилих (табл. 1). Крім того, за даними літератури [2, 4], наведено ще 3 види кліщів, не знайдених нами.

Таблиця 1

Паразито-хазяїнні зв'язки кліщів-канестриніід України і Молдови

Таксони твердокрилих	Види кліщів	Місце знахідки
Родина Carabidae		
Рід Calosoma F. Weber, 1801		
<i>C. auro-punctatum</i> (Herbst, 1784)	<i>Paraphotia calosomae</i> Khaustov et Eidelberg, 2001	Україна: Донецька обл.
Рід Carabus Linnaeus, 1758		
<i>C. ulrichi</i> Germar, 1824	* <i>Photia</i> sp. 1 * <i>Pseudocanestrinia</i> sp.	Молдова: Страшенський р-н
<i>C. excellens</i> Fabricius, 1798	* <i>Photia</i> sp. 2	Молдова: Страшенський р-н; Україна: Одеська обл.
	* <i>Pseudocanestrinia</i> sp.	Молдова: Страшенський р-н
<i>C. besseri</i> Fischer von Waldheim, 1822	* <i>Photia</i> sp. 3	Україна: Одеська, Миколаївська обл.
<i>C. linnaei</i> Panzer, 1812	<i>Photia hermengildae</i> Haitlinger, 1988	Україна: Закарпатська обл.
<i>C. glabratus</i> Paykull, 1790	<i>Photia adolphinae</i> Haitlinger, 1994	Україна: Кіровоградська обл.
<i>C. bessarabicus</i> Fischer von Waldheim, 1823	** <i>Pseudocanestrinia carabi</i> Khaustov et Eidelberg, 2001	Україна: Крим
<i>C. hungaricus</i> Fabricius, 1792	** <i>Photia polymorpha</i> Samšinák, 1971	Україна: Крим
<i>C. variolosus</i> Fabricius, 1787	<i>Dicanestrinia knobi</i> Samšinák, 1971	Україна: Закарпатська обл.

Продовження таблиці 1

Таксони твердокрилих	Види кліщів	Місце знахідки
<i>C. irregularis</i> Fabricius, 1792	* <i>Photia chrysocarabi</i> Cooreman, 1950	Україна: Закарпатська обл.
<i>C. gyllenhalii</i> Fischer von Waldheim, 1827	** <i>Pseudocanestrinia berndi</i> (Haitlinger, 1995) <i>Ph. adolphinae</i>	Україна: Крим
<i>C. violaceus</i> Linnaeus, 1758	<i>Photia hejnikiana</i> Samšinák, 1971	Україна: Львівська обл.
<i>C. auronitens escheri</i> Palliardi, 1825	<i>Photia chrysocarabi</i>	Україна: Закарпатська обл.
<i>C. coriaceus</i> Linnaeus, 1758	<i>Canestrinia sellnicki</i> (Samšinák, 1965)	Україна: Одеська, Хмельницька обл.; Молдова: Страшенський р-н
	<i>Procericola bourgognei</i> (Oudemans, 1923)	Україна: Кіровоградська, Хмельницька обл.; Молдова: Бендерський р-н
	* <i>Photia hejnikiana</i>	Україна: Одеська обл.; Молдова: Страшенський р-н
Рід <i>Cychrus</i> Fabricius, 1792		
<i>Cychrus semigranosus</i> Palliardi, 1825	* <i>Canestriniidae g. sp.</i>	Молдова: Страшенський р-н
Родина <i>Lucanidae</i>		
Рід <i>Dorcus</i> Macleay, 1819		
<i>D. parallelopipides</i> (Linnaeus, 1758)	<i>Canestrinia dorcicola</i> Berlese, 1881	Україна: Донецька обл.
Родина <i>Scarabaeidae</i>		
Рід <i>Pentodon</i> Hope, 1837		
<i>P. idiota</i> (Herbst, 1789)	<i>Canestrinia damiani</i> Haitlinger, 1989	Україна: Одеська, Донецька обл.
Рід <i>Potosia</i> Mulsant, 1871		
<i>P. affinis</i> (Andersch, 1797)	<i>Coleopterophagus donaldi</i> Haitlinger, 1990	Україна: Одеська, Донецька обл.
<i>P. fieberi</i> (Kraatz, 1880)	* <i>Coleopterophagus sp.</i>	Україна: Одеська, Донецька, Київська обл.
<i>P. metallica</i> (Herbst, 1782)	<i>Coleopterophagus megnini</i> (Berlese, 1881)	Україна: Львівська, Чернігівська, Луганська обл.
Родина <i>Tenebrionidae</i>		
Рід <i>Blaps</i> Fabricius, 1775		
<i>B. lethifera</i> Marsham, 1802	<i>Percanestrinia blaptis</i> (G. Canestrini et Berlese, 1880)	Україна: Одеська обл.
Родина <i>Chrysomelidae</i>		
Рід <i>Timarcha</i> Latreille, 1829		
<i>T. goettingensis</i> (Linnaeus, 1758)	* <i>Pseudamansia sp.</i>	Україна: Одеська обл., Вінницька, Донецька обл.
<i>T. tenebricosa</i> (Fabricius, 1775)	<i>Amansiella trilobata</i> Khaustov et Eidelberg, 2001	Україна: Крим, Донецька обл.

Закінчення таблиці 1

Таксони твердокрилих	Види кліщів	Місце знахідки
Рід <i>Chrysolina</i> Motschulsky, 1860		
<i>Ch. herbacea</i> (Duftschmidt, 1825)	<i>Paramansia bicornis</i> Khaustov et Eidelberg, 2001	Україна: Крим
<i>Ch. fastuosa</i> (Scopoli, 1763)	* <i>Paramansia bicornis</i>	Україна: Кіровоградська обл.
<i>Ch. polita</i> (Linnaeus, 1758)	* <i>Paramansia bicornis</i>	Україна: Одеська обл.

Примітка: * — на даному хазяїні кліщ виявлений вперше; ** — наведено за даними літератури.

Нижче представлений список жуків, потенційних хазяїв канестриніід, на яких нам не вдалося знайти кліщів родини Canestriniidae (можливо через недостатню вибірку). Ті види жуків, на яких кліщів-канестриніід знаходили інші дослідники [5, 6], помічені зірочкою.

Родина Carabidae: *Calosoma sycophanta* (Linnaeus, 1758), *C. inquisitor* (Linnaeus, 1758), *Carabus arvensis* Herbst, 1784, *C. obsoletus* Sturm, 1815, *C. cancellatus* Illiger, 1798, *C. granulatus* Linnaeus, 1758, *C. zawadzki* Kraatz, 1854, *C. bosporanus* Fischer von Waldheim, 1823, *C. haeres* Fischer von Waldheim, 1823, *C. scabriusculus* Olivier, 1795, *C. clathratus* Linnaeus, 1761, *C. nitens* Linnaeus, 1758, *C. transylvanicus* Dejean, 1826, *C. convexus* Fabricius, 1775, *C. marginalis* Fabricius, 1794, *C. intricatus* Linnaeus, 1761, *C. scabrosus tauricus* Bonelli, 1811, *Pterostichus* spp., *Abax* spp.

Родина Lucanidae: *Lucanus cervus* (Linnaeus, 1758).

Родина Scarabaeidae: *Oryctes nasicornis* (Linnaeus, 1758), *Phyllognathus excavatus* (Forster, 1771), *Pentodon sulcifrons* Küster, 1848, *Epicometis hirta* (Poda, 1761), *Oxythyrea funesta* (Poda, 1761), *Cetonia aurata* (Linnaeus, 1761), *Potosia lugubris* (Herbst, 1786), * *P. aeruginosa* (Drury, 1770), *P. hungarica* (Herbst, 1790).

Родина Tenebrionidae: *Prosodes obtusa* (Fabricius, 1798), *Pimelia subglobosa* (Pallas, 1781), * *Gnaptor spinimanus* (Pallas, 1781).

Родина Cerambycidae: *Cerambyx scopolii* (Fuessly, 1775).

Родина Chrysomelidae: *Timarcha metallica* (Laicharting, 1781), *T. rugulosa* Herrich-Schäffer, 1838, *Chrysolina globipennis* (Suffrian, 1851), *Ch. graminis* (Linnaeus, 1758), *Ch. staphylaea* (Linnaeus, 1758), *Ch. cerealis* (Linnaeus, 1767), *Ch. marcasitica* (Germar, 1824), *Ch. purpurascens* (Germar, 1822), *Ch. rufa* (Duftschmidt, 1825), *Ch. umbratilis* (Weise, 1887), *Ch. chalcites* (Germar, 1824), *Ch. oricalcia* (Müller, 1776), *Ch. haemoptera* (Linnaeus, 1758), *Ch. sturmi* (Westhoff, 1882), *Ch. reitteri* (Weise, 1884), *Ch. gypsophilae* (Küster, 1845), *Ch. varians* (Schaller, 1783), *Ch. cuprina* (Duftschmidt, 1825), *Ch. limbata* (Fabricius, 1775), *Ch. marginata* (Linnaeus, 1758), *Entomoscelis* spp., *Chrysochloa* spp., *Gonioctena* spp.

Таким чином, з видом *Carabus coriaceus* пов'язано три види канестринід, з видами *Carabus ulrichi* та *C. excellens* — по 2 види, з іншими видами жуків — по одному виду кліщів. Вперше як хазяїв кліщів цієї родини ми наводимо один рід (*Cychrus*) та вісім видів жуків (*Carabus ulrichi*, *C. excellens*, *C. besseri*, *C. irregularis*, *Cychrus semigranosus*, *Potosia fieberi*, *Chrysolina fastuosa*, *Ch. polita*).

Три невизначених види роду *Photia* близькі до виду *Ph. chryso-carabi* і є, скоріш за все, новими для науки, однак точно про це можна буде говорити лише після дослідження додаткового порівняльного матеріалу щодо цього роду. Види цієї групи розрізняються між собою довжиною, товщиною та взаємним розташуванням щетинок на дорзальному боці у самиць. В 1971 р. К. Самшиняк [2] описав новий вид — *Photia polymorpha*, знайдений на ряді турунів, зібраних в різних регіонах Палеарктики, в тому числі і на *Carabus hungaricus* з Криму. Ми проглянули декілька екземплярів цього виду, зібраних на території материкової України (Херсонська обл., біосферний заповідник "Асканія-Нова"), але кліщів не виявили. Знайдений нами на *Potosia fieberi* кліщ роду *Coleopterophagus* відрізняється від усіх описаних інших видів кліщів цього роду. Він найбільш схожий на *C. megnini*, від якого відрізняється особливостями скульптури дорзального боку у самиць. Виявлений на *Timarcha goettingensis* кліщ роду *Pseudamansia* відрізняється від єдиного описаного виду цього роду — *P. chrysomelinus*, знайденого у Франції та Бельгії на видах роду *Timarcha*, довжиною дорзальних щетинок у самиць. Реєстрація *Paramansia bicornis*, знайденого раніше в Криму на листоїді *Chrysolina herbacea*, на двох інших видах листоїдів, свідчить про більш широке коло хазяїв. Вірогідно в подальшому він буде виявлений і на деяких інших видах роду *Chrysolina*.

З репрезентованих у наших зборах 22 видів канестринід, 18 (*Paraphotia calosomae*, *Photia adolphinae*, *Ph. hejniana*, *Ph. chryso-carabi*, *Ph. hermengildae*, *Ph. sp. 1*, *Ph. sp. 2*, *Ph. sp. 3*, *Procericola bourgognei*, *Dicanestrinia knobi*, *Coleopterophagus megnini*, *C. donaldi*, *C. sp.*, *Canestrinia sellnicki*, *C. damiani*, *Pseudamansia sp.*, *Amansiella trilobata*, *Paramansia bicornis*) знаходилися в субелітральній порожнині — на внутрішній поверхні надкрил та на тергітах черевця і лише іноді окремі екземпляри траплялися ззовні. Інші чотири види знаходилися виключно ззовні, *Percanestrinia blaptis*, *Pseudocanestrinia sp. i* *Canestriniidae g. sp.* — на голові, грудях, кінцівках, *Canestrinia dorcicola* — на голові, біля ротових органів, у щілинах та порожнинах між ними.

Слід зазначити, що в подальшому паразито-хазяїнний список буде значно доповнюватися, тому що з багатьма видами жуків у нас не було можливості ознайомитися. Так, багато жуків з родів *Carabus*, *Calosoma*, *Potosia* на території України та Молдови зустрічаються локально і є дуже рідкісними у зборах.

За ступенем екстенсивності зараження (доля заражених організмів), види твердокрилих, на яких були знайдені кліщі, можна розділити на три групи (наводимо лише ті види, для яких у нас є достатній матеріал):

1. Заражені майже всі жуки з багатьох місць збору (1 вид): *Timarcha tenebricosa*.

2. Заражено біля половини екземплярів (12 видів): *Carabus ulrichi*, *C. excellens*, *C. linnaei*, *C. variolosus*, *C. gyllenhali*, *C. auronitens escheri*, *Pentodon idiota*, *Potosia affinis*, *P. fieberi*, *P. metallica*, *T. goettingensis*, *Ch. herbacea*. Цікаво, що зараженість деяких з цих жуків неоднакова в різних регіонах. Наприклад у Молдові кліщі відмічені на половині екземплярів з вибірки *Carabus excellens*, а на великій вибірці з Харківської області кліщів взагалі не було.

3. Заражені лише окремі екземпляри (5 видів): *Calosoma auro-punctatum*, *Dorcus parallelopipides*, *Blaps lethifera*, *Chrysolina fastuosa*, *Ch. polita*.

Ступінь інтенсивності зараження (кількість паразитів на одному хазяїні) коливалася в дуже широких межах навіть на жуках з одного місця збору: від одного до двох сотень паразитів на хазяїні (враховуючи різні життєві стадії кліщів).

Висновки

1. В Україні і Молдові знайдено 22 види кліщів родини Canestriniidae, що мешкають на 24 видах твердокрилих. Для фауни Молдови кліщі цієї родини наводяться вперше.
2. Вперше як хазяїв канестриніід зареєстровано один рід (*Cychnus*) та наступні види жуків: *Carabus ulrichi*, *C. excellens*, *C. besseri*, *C. irregularis*, *Cychnus semigranosus*, *Potosia fieberi*, *Chrysolina fastuosa*, *Ch. polita*.

Висловлюємо щире подяку за допомогу та наданий матеріал проф. В. Д. Севастьянову (Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова), к. б. н. О. О. Хаустову (Никитський ботанічний сад, Ялта), к. б. н. В. В. Мартинову (Донецький національний університет), М. Є. Сергееву (Донецьк).

Література

1. O'Connor B. M. Astigmata // Synopsis and Classification of Living Organisms / S. B. Parker. — New York: Mc-Graw-Hill, 1982. — Vol. 2. — P. 146–169.
2. Samšínák K. Die auf Carabus-Arten (Coleoptera, Adephaga) der palaearktischen Region lebenden Milben der Unterordnung Acariformes (Acari); ihre Taxonomie und Bedeutung für die Lösung zoogeographischer, entwicklungschriftlicher und parasitophyletischer Fragen // Entomologische Abhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde in Dresden. — 1971. — Bd. 38, N 6. — S. 145–234.
3. Haitlinger R. New canestriniid mites (Acari, Astigmata, Canestriniidae) associated with beetles of the genera *Oryctes*, *Trichogomphus* and *Pentodon* (Insecta, Coleoptera, Scarabaeidae, Dynastinae) // Wiadomości Parazytologiczne. — 1989. — T. 35, N 4. — S. 337–355.

4. Khaustov A. A., Eidelberg M. M. A review of the mite family Canestriniidae (Acarina: Astigmata) of the eastern Palearctic // *Acarina*. — 2001. — Vol. 9, N 1. — P. 23–46.
5. Haitlinger R. The genus *Coleopterophagus* Berlese, 1882 (Acari, Astigmata, Canestriniidae) with description of seven new species and key for species determination // *Annales Zoologici*. — 1990. — T. 43, N 15. — S. 327–341.
6. Beron P. *Canestrinia samsinaki* sp. n. (Acariformes, Glycyphagidae) — un nouvel Acarien, vivant sous les élytres des Coleopteres de la famille Tenebrionidae // *Acta Zoologica Bulgarica*. — 1975. — N 2. — S. 83–89.

В. А. Трач

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра зоологии, ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина, e-mail: listoed@rambler.ru

**ПАРАЗИТО-ХОЗЯИННЫЕ СВЯЗИ КЛЕЩЕЙ СЕМЕЙСТВА
CANESTRINIIDAE (ACARI: ASTIGMATA) В УКРАИНЕ И МОЛДОВЕ**

Резюме

В Украине и Молдове выявили 22 вида клещей семейства Canestriniidae (Acari: Astigmata), обитающих на 24 видах жесткокрылых (Coleoptera). Для фауны Молдовы семейство Canestriniidae упоминается впервые. Впервые как хозяева канестринид зарегистрирован один род — *Cychrus* (Carabidae) и 8 видов жуков: *Carabus ulrichi*, *C. excellens*, *C. besseri*, *C. irregularis*, *Cychrus semigranosus* (Carabidae), *Potosia fieberi* (Scarabaeidae), *Chrysolina fastuosa*, *Ch. polita* (Chrysomelidae).

Ключевые слова: Canestriniidae, Coleoptera, Украина, Молдова, паразито-хозяйинные связи.

V. A. Trach

I. I. Mechnikov Odessa National University, Department of Zoology, Dvoryanskaya Str., 2, Odessa, 65026, Ukraine, e-mail: listoed@rambler.ru

**THE HOST-PARASITE ASSOCIATIONS OF THE MITES FAMILY
CANESTRINIIDAE (ACARI: ASTIGMATA) IN UKRAINE AND
MOLDOVA**

Summary

22 species of the mites family Canestriniidae (Acari: Astigmata) associated with 24 species of the beetles (Coleoptera) are recorded in Ukraine and Moldova. Family Canestriniidae is found in Moldova for the first time. One genus — *Cychrus* (Carabidae) and eight species beetles — *Carabus ulrichi*, *C. excellens*, *C. besseri*, *C. irregularis*, *Cychrus semigranosus* (Carabidae), *Potosia fieberi* (Scarabaeidae), *Chrysolina fastuosa*, *Ch. polita* (Chrysomelidae) are the new hosts for canestriniids.

Keywords: Canestriniidae, Coleoptera, Ukraine, Moldova, host-parasite associations.

МІКРОБІОЛОГІЯ



УДК 579.821

О. Л. Рахімова, асист., Ю. Б. Чистякова студ.Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
каф. мікробіології і вірусології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

БИОМАСА *Mucosoccus xanthus* У ЯКОСТІ БІОСОРБЕНТУ КАДМІЮ

Вивчено сорбцію кадмію клітинами *Mucosoccus xanthus* Beebe 1941 в залежності від стану біомаси, віку культури, температури та концентрації кадмію у розчині. Продемонстровано, що найбільш ефективно кадмій сорбує 72-х годинна суха клітинна біомаса з невідаленим ліпополісахаридом при початковій концентрації кадмію від 0,3 до 0,5 мМ. Достовірних відмінностей в сорбції кадмію при температурах — 20, 30, 37°C не виявлено. Встановлено, що з використанням 0,2 мМ цитрату натрію в якості десорбуючого агенту можливе відновлення 90–95% сорбованого кадмію, що підтверджує акумуляцію цього металу поверхнею клітини.

Ключові слова: міксобактерії, важкі метали, біосорбція.

Забруднення оточуючого середовища важкими металами в промислово розвинених країнах постійно зростає [1]. Можливим варіантом вирішення цієї проблеми є очищення стічних вод за допомогою бактерій. На разі використання мікробної біомаси для екстрагування важких металів дуже розповсюджене. Можливе використання для цієї мети як неушкоджених живих, так і вбитих мікробних клітин поряд з використанням окремих клітинних компонентів [2, 3]. Н. L. Ehrlich [4] показав, що будь-які мікроорганізми або їх клітинні фракції (за умов, що в них є негативно заряджені групи) потенційно можуть бути використані для екстрагування катіонів металів.

У попередній роботі [5] було досліджено закономірності акумуляції деяких важких металів, у тому числі кадмію, штамми *M. xanthus*. *M. xanthus* належить до міксобактерій, що відомі своїм складним життєвим циклом, морфогенезом, диференціацією та біотехнологічним потенціалом. Міксобактерії є звичайними ґрунтовими мешканцями, вони характеризуються рясним продукуванням слизу полісахаридної природи [6].

Кадмій є поширеним забруднювачем стічних вод в Україні. Цей метал відносять до токсичних важких металів, оскільки для нього не відома біологічна функція. Тому метою даної роботи було дослідження потенційно можливого використання *M. xanthus* у біотехнологічних процесах вилучення кадмію зі стічних вод.

Матеріали і методи

У даному дослідженні були використані два штами бактерій роду *Mycococcus*: *M. Xanthus*: *M. xanthus* V-25 (ізольований з чорнозему України) і *M. xanthus* 422, що має властивості типового (люб'язно наданий професором J. Ma. Arias-Penalver, Granada University, Spain). Штами зберігали у вигляді зрілих плодових тіл у висушеному стані на дисках фільтрувального паперу (діаметр 6 мм) при 5°C. Перед експериментом диски з культурами пророщували на дріжджовому агарі yeast-calcium agar (YCA) [Reichenbach, Dworkin, 1992], що містить 0,5% пекарських дріжджів, 0,1% CaCl₂, 1,5% агару і 0,5 мкг/мл ціанкоболаміну (рН 7,2) при 30°C у темряві. У подальшому культивування провадили на рідкому середовищі СТ [7], що містить 2% пептону, 0,2% MgSO₄ · H₂O, фосфатного буферу рН 7,6–0,01 М.

Скляний та пластиковий посуд, що використовували в експерименті, попередньо обробляли 50% розчином HNO₃ на протязі 24 годин, потім відмивали двічі дистильованою водою. Хімічні реактиви, що були використані в експерименті, мали марку "ч. д. а."

Через 24, 48 і 72 години після вирощування культур на середовищі СТ клітини з ліпополісахаридом осаджували центрифугуванням при 4000 об/хв 15 хв. Для відділення клітин від ліпополісахариду використовували центрифугування при 11000 об/хв 15 хв. При цьому осад містив клітини мікроорганізмів, супернатант-ліпополісахарид.

Вологу біомасу збирали відразу після центрифугування без додаткової обробки. Для отримання сухої біомаси клітини висушували при 90°C протягом 12 годин.

Для визначення біосорбційного потенціалу мікроорганізмів брали наважку сухої біомаси (або її еквівалент вологої) і поміщали у флакони, що містили CdCl₂ у концентраціях 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 1,0; 1,5 і 5 мМ. Інкубували в ротаторі при 30°C і 150 обертах за хвилину протягом 20 хвилин при температурі 20°C, 30°C і 37°C. Потім центрифугували і відмивали двічі 0,2 мМ малеатного буферу (рН 7,2). Аналіз вмісту Cd здійснювали за допомогою атомно-абсорбційного спектрофотометра (Perkin-Elmer 3100) за довжини хвилі 228,8 нм у газово-ацетиленовій суміші. Кількість акумульованого металу виражали у міліграмах на грам сухої ваги біомаси.

Для оцінки процесів десорбції Cd використовували два реактиви — карбонат натрію і лимоннокислий натрій у концентраціях 0,1; 0,2 і 0,3 М. Зібрані, як і у попередньому експерименті, варіанти біомаси потім ресуспендували з різними агентами десорбції і інкубували за 30°C у ротаторі при 150 обертах за хвилину протягом 20 хвилин. Потім клітини збирали і оцінювали вміст металу (див. вище).

Всі дослідження проводили в трьох повторностях. Обробку результатів провадили за допомогою програмного забезпечення Microsoft Office 2000 від Microsoft Corporation®.

Результати і обговорення

Порівняння біосорбційної здатності сухої і вологої біомаси провадили за концентрації 0,5 мМ кадмію (табл. 1). Виявлено, що суха біомаса клітин з екстрацелюлярним ліпополісахаридом 72-годинної культури є найбільш ефективним біосорбентом із усіх вивчених зразків як штаму *M. xanthus* V-25, так і штаму *M. xanthus* 422. Аналогічна закономірність виявлена для інших видів мікроорганізмів і катіонів металів [2, 8, 9].

Таблиця 1

Біосорбція кадмію біомасою штамів *M. xanthus* (мг/г сухої ваги)

Штам	Умови		Час інкубації, год.		
			24	48	72
V-25	Волога біомаса	Клітини	10,0±0,8	38,0±2,7	88,0±7,5
		Клітини з ліпополісахаридом	70,0±5,9	69,0±5,8	110,0±9,3
		Ліпополісахарид	60,0±5,1	45,0±3,8	51,0±4,3
	Суха біомаса	Клітини	5,0±0,4	30,0±2,5	60,0±5,1
		Клітини з ліпополісахаридом	39,0±2,8	57,0±4,8	125,0±10,6
		Ліпополісахарид	30,0±2,5	35,0±2,9	39,0±2,8
422	Волога біомаса	Клітини	120,0±10,2	410,0±35,6	850,0±72,0
		Клітини з ліпополісахаридом	700,0±51,4	720,0±61,0	1250,0±106,0
		Ліпополісахарид	500,0±42,4	250,0±21,2	500,0±42,4
	Суха біомаса	Клітини	70,0±5,9	200,0±17,6	700,0±51,4
		Клітини з ліпополісахаридом	350,0±30,1	770,0±65,2	1300,0±110,2
		Ліпополісахарид	290,0±24,6	250,0±21,2	350,0±30,8

У подальшому експерименти продовжували лише із сухою біомасою 72-х годинних клітин з невилученим слизовим шаром.

Подальшими дослідженнями було виявлено, що у діапазоні температур 20–37°C кількість кадмію, що сорбується, при його початковій концентрації 0,5 мМ істотно не змінюється (табл. 2). Таким чином, з'ясовано, що цей процес за умов дослідження не залежить від температури.

Також було оцінено вплив початкової концентрації кадмію у розчині на біосорбційну здатність сухої біомаси (клітини зі слизовим шаром), отриманої в результаті 72 годин культивування (табл. 3). Виявлено, що найбільш інтенсивно процеси акумуляції йдуть у діапазоні концентрацій кадмію від 0,3 до 0,5 мМ.

Таблиця 2

**Адсорбція кадмію біомасою мікроорганізмів за різних температур
(мг · г⁻¹ сухої ваги)**

Штам <i>M. xanthus</i>	20 °С	30 °С	37 °С
V-25	125±13,4	138±21,5	130±11,4
422	1300±110,2	1360±115,3	1400±118,7

Таблиця 3

**Кількість кадмію, біосорбованого із розчинів з різною вихідною
концентрацією (%)**

Штам <i>M. xanthus</i>	Початкова концентрація CdCl ₂ , мМ							
	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	1,0	1,5	5,0
V-25	41	43	96	95	90	30	20	18
422	39	45	98	99	90	37	25	20

Таким чином, виявлено, що на біосорбцію штамами *M. xanthus* впливають вік культури і початкова концентрація CdCl₂ у розчині. У концентраціях до 0,5 мМ біосорбція йде більш ефективно. Аналогічні закономірності виявлені для інших видів мікроорганізмів [10].

Як було показано раніше, можливе вилучення акумульованих важких металів, у тому числі і кадмію, за допомогою ЕДТА [5]. Цього разу була зроблена спроба дослідити у якості десорбентів менш дорогі реактиви (табл. 4).

Виходячи з отриманих даних, оптимальним десорбентом кадмію із біомаси клітин міксобактерій є лимоннокислий натрій у концентрації 0,2 мМ.

Ж. А. Brierey et al. [11] розраховували, що біосорбент можна вважати ефективним, якщо він здатен акумулювати не менш, ніж 150 мг металу на грам сухої біомаси. У даному дослідженні показано, що кількість кадмію, яку здатна акумулювати біомаса *M. xanthus*, досягає 1300 мг кадмію на грам сухої ваги.

Таблиця 4

Десорбція кадмію з клітин штамів *M. xanthus* (% від адсорбованого)

Штам	Десорбент	Концентрація десорбенту, мМ		
		0,1	0,2	0,3
V-25	Карбонат натрію	10	12	20
	Цитрат натрію	50	90	70
422	Карбонат натрію	12	11	25
	Цитрат натрію	57	95	78

Примітка: Інкубація клітин — 20 хвилин у розчині 0,5 мМ кадмію при рН 5,5.

Оскільки попередньо у міксобактерій виявлено ряд властивостей, що дозволяють використовувати штами у біотехнологічних виробництвах (наявність літичних ензимів, продукція фунгіцидних і антибактеріальних сполук), то, враховуючи здатність цих бактерій акумулювати різні важкі метали [5], нами вперше з'ясована можливість використання біомаси *M. xanthus* (як можливого і дешевого відходу виробництва) для сорбції кадмію з ґрунту.

Висновки

1. Найбільш успішно як суха, так і волога біомаса міксобактерій акумулює кадмій за таких умов: 72 години інкубації за вихідної концентрації CdCl₂ у розчині 0,3–0,5 мМ.
2. Біомасу міксобактерій можна звільнити від кадмію, використовуючи 0,2 М водний розчин цитрату натрію.
3. Температура культивування (20, 30, 37°C) не впливає на здатність міксобактерій сорбувати кадмій.

Література

1. Crine M. Le traitement des eaux industrielles chargees en metaux lourds // Tribune de l'eau. — 1993. — Vol. 561. — P. 3–19.
2. Fourest E., Canal C., Roux J. C. Improvement of heavy metal biosorption by mycelial dead biomasses (*Rhizopus arrhizus*, *Mucor miehei* and *Penicillium chrysogenum*): pH control and cationic activation // FEMS Microbiology Reviews. — 1994. — Vol. 14. — P. 325–332.
3. Scott J. A., Palmer S. J. Sites of cadmium uptake in bacteria used for biosorption // Applied Microbiology and Biotechnology. — 1990. — Vol. 33. — P. 221–225.
4. Ehrlich H. L. What types of microorganisms are effective in bioleaching, bioaccumulation of metals, ore beneficiation, and desulfurization of fossil fuels? // Biotechnology Symposium. — 1986. — Vol. 16. — P. 227–237.
5. Рахімова О. Л. Біологічні властивості міксобактерій природних біоценозів півдня України: Автореф. дис... канд. біол. наук. — К., 2006. — 21 с.
6. Dworkin M., Kaiser D. Мyxobacteria / Biomedical polymers. Washington: American Society for Microbiology. — 1993. — P. 483–487.
7. Reichenbach H., Dworkin M. The myxobacteria / Prokaryotes, 2nd edn. Balows A., Truper H. G., Dworkin M., Harder W., Schleiter K. H. (eds). New York: Springer-Verlag, 1992. — P. 3416–3487.
8. Removal of lead from aqueous solutions by *Penicillium* biomass / H. Niu, X. S. Xu, J. H. Wang, B. Volesky // Biotechnology and Bioengineering. — 1993. — Vol. 42. — P. 785–787.
9. Sadowski Z., Golab Z., Smith R. W. Flotation of *Streptomyces pilosus* after lead accumulation // Biotechnology and Bioengineering. — 1991. — Vol. 37. — P. 955–959.
10. Gadd G. M., de Rome L. Biosorption of copper by fungal melanin // Applied Microbiology and Biotechnology. — 1988. — Vol. 29. — P. 610–617.
11. Brierley J. A., Goyak G. M., Brierley C. L. Considerations for commercial use of natural products for metal recovery / H. Eccles and S. Hunt (ed.), Immobilization of Ions by Biosorption, — 1986. Ellis Horwood, Chichester. — P. 105–117.

Е. Л. Рахимова, Ю. Б. Чистякова

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
каф. микробиологии и вирусологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

БИОМАССА МУХОСОCCUS XANTHUS КАК БИОСОРБЕНТ КАДМИЯ

Резюме

Изучена сорбция кадмия клетками *Myxococcus xanthus* Beebe 1941 в зависимости от состояния биомассы, возраста культуры, температуры и начальной концентрации кадмия в растворе. Продемонстрировано, что наиболее эффективно кадмий сорбирует 72-х часовая сухая клеточная биомасса с неуглеводородным липополисахаридом при начальной концентрации кадмия от 0,3 до 0,5 мМ. Достоверных различий в сорбции кадмия при температурах — 20, 30, 37°C не выявлено. Установлено, что при использовании 0,2 мМ цитрата натрия в качестве десорбирующего агента возможно восстановление 90–95% сорбированного кадмия, что подтверждает аккумуляцию этого металла поверхностью клетки.

Ключевые слова: миксобактерии, тяжелые металлы, биосорбция.

O. L. Rakhimova, Ju. B. Chistyakova

Odesa National University, Department of Microbiology and Virology,
Dvoryanska, 2, Odesa, 65026, Ukraine

MYXOCOCCUS XANTHUS BIOMASS AS CADMIUM BIOSORBENT

Summary

The sorption of cadmium by *Myxococcus xanthus* Beebe 1941 cells depending of biomass stage, age of culture and initial cadmium concentration in solution was studied. It was shown that the 72 hours age cell biomass with extracellular polysaccharide at the initial cadmium concentration 0,3–0,5 mM accumulates cadmium more efficiently. The reliable distinctions in sorption of cadmium at the temperatures — 20, 30, 37°C were not exposed. It was established that 90–95% accumulated cadmium could be recovered by using sodium citrate as a desorbent agent. It affirms that biosorbed cadmium is located on the cellular wall.

Keywords: myxobacteria, heavy metals, biosorption.

ТЕОРЕТИЧНА
БІОЛОГІЯ



УДК 577.3

А. В. Колесников, асист., **Л. М. Карпов**, д-р біол. наук,
проф., зав. кафедрою
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра фізіології людини і тварин,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ПРО СТРУКТУРУ ДИНАМІЧНИХ ПРОЦЕСІВ У МОДЕЛЯХ БІОЛОГІЧНИХ СИСТЕМ

Розглядаються моделі біологічних систем, основані на формалізмі, подібному термодинамічному. Показано, що введення в термодинамічну модель циркуляційної складової розширює його можливості і дозволяє описувати складні динамічні режими, і, зокрема, автоколивальні.

Ключові слова: біосистеми, моделі, термодинаміка, циркуляційні рухи, періодичні процеси.

Одним із загальних підходів до аналізу явищ у біологічних системах є застосування термодинамічного формалізму. З термодинамічної точки зору біологічні системи можна умовно розділити на три типи [1]:

1. Навколорівноважні відкриті системи
2. Системи, у яких швидкість притоку енергії в усі ступені свободи менше швидкості дисипації. Це системи з переважною дисипацією.
3. Системи, у яких швидкість притоку енергії вище швидкості дисипації хоча б для однієї ступені свободи. Тут значення динамічних змінних сильно відрізняється від рівноважних.

Системи першого типу допускають застосування лінійної нерівноважної термодинаміки, для систем другого виду корисним виявляється підхід, пов'язаний з нелінійною термодинамікою, а для третіх застосування термодинамічного підходу непродуктивно, тут необхідно враховувати динамічні закономірності. Їх відносять до "нетермодинамічних", тобто вказують на ведучу роль різноманітності і складності динамічних режимів, особливо коливальних. Тим часом саме вони представляють для теорії біосистем найбільший інтерес.

Становить інтерес спроба в такий спосіб доповнити термодинамічний підхід, щоб він охоплював більше число динамічних режимів і в той же час дозволяв з великого класу складних систем виділити біологічні і підкреслити їхню своєрідність.

Для дослідження складностей, що виникли при спробі застосування термодинамічного підходу до біосистем, повернемося до роботи [1]. Як термодинамічну модель природних систем автори пропонують градієнтну динамічну систему виду (1)

$$\frac{dx_i}{dt} = -\frac{\partial \sigma_{in}(x)}{\partial x_i}. \quad (1)$$

Тут x_i — динамічні змінні, $\sigma_{in}(x)$ — швидкість внутрішньої продукції ентропії. Права частина (1) може бути нелінійна за x_i , тобто обмеження лінійної термодинаміки частково зняті. Як відомо з теорії катастроф [2] розглянута система може виявляти динамічну нестійкість поблизу максимуму потенціалу $\sigma_{in}(x)$.

Обмеженість моделі (1) полягає в тому, що нею може бути описане тільки наближення системи до стаціонарного стану. Розглянута система у найкоротший спосіб наближується до стану з найменшою продукцією ентропії. Добре відомо, що цьому описові відповідає лише мала частка біологічної реальності, приблизно відповідної області фактичного матеріалу, який описується теорією Пригожина-Віам [3], постулюючою зменшення продукції ентропії в процесі еволюції біосистеми в часі. За допомогою систем виду (1) вдається описати деякі біологічні ефекти [4], однак періодичні і складні динамічні режими, так широко розповсюджені в біосистемах, не охоплюються цим описом.

У процесі пошуку поглиблення цього уявлення природно розглянути розклад виду (2):

$$\frac{dx_i}{dt} = -\frac{\partial \Pi(x)}{\partial x_i} + R_i(x). \quad (2)$$

Перший доданок у правій частині являє собою градієнт потенційної функції $\Pi(x)$, властивості якої подібні швидкості внутрішньої продукції ентропії $\sigma_{in}(x)$. Для довільної динамічної системи така розбивка неоднозначна і може бути зроблена декількома способами в залежності від змісту вихідної задачі.

Нехай модель біологічного процесу побудована у виді диференціальної системи виду (3):

$$\frac{dq_i}{dt} = Q(q) \quad i = 1, \dots, n. \quad (3)$$

Вона описує зміну модельних біологічних перемінних q_i у часі і задає в n -мірному фазовому просторі векторне поле. Розглянемо розклад (2), коли $R(x)$ є так званими циркуляційними рухами динамічної системи. Згідно [5, 6], довільне безперервне зі своїми часними похідними векторне поле можна представити у вигляді суми (4):

$$Q(q) = K(q) + R(q). \quad (4)$$

Перша складова являє собою потенційне поле (5):

$$K = -\text{grad } \Pi(q). \quad (5)$$

Другий доданок задає циркуляційне поле, для якого виконується (6):

$$\sum_i R_i q_i \equiv 0. \quad (6)$$

Воно відповідає рухам, ортогональним радіусу-векторові q . Відповідні доданки знаходяться, виходячи зі значення потенціалу $\Pi(q)$ (7):

$$\Pi(q) = - \int \frac{H(C_1 q_1, \dots, C_{n-1} q_n, q_n)}{q_n} dq_n. \quad (7)$$

Тут $H(q_1, \dots, q_n) = \sum_i q_i Q_i$, а величини C_i після інтегрування замі-

няються на їхні значення $C_i = \frac{q_i}{q_n}$.

Здійснимо розглянутий алгоритм для точкової системи типу Фитц-Хью [7, 8], що виявляє автоколивальне поведіння (8):

$$\begin{aligned} \dot{X} &= -1/3 X^3 + X - Y \\ \dot{Y} &= X - 0.8 Y - 0.1 \end{aligned} \quad (8)$$

Головні ізокліни системи перетинаються в стані рівноваги $X \approx 0.409$, $Y \approx 0.386$, що є хитливим фокусом. Його оточує асимптотично стійкий граничний цикл.

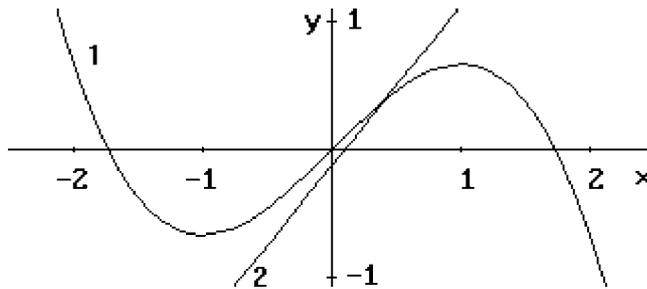


Рис. 1. Ізокліна 1 відповідає першому рівнянню системи (1), ізокліна 2 — другому. Стан рівноваги — перетинання ізоклін з координатами $X = 0.409$, $Y = 0.386$. Це — хитливий фокус, оточений граничним циклом

Вид асимптотично стійкого періодичного режиму уточнимо за допомогою чисельного моделювання (рис. 2):

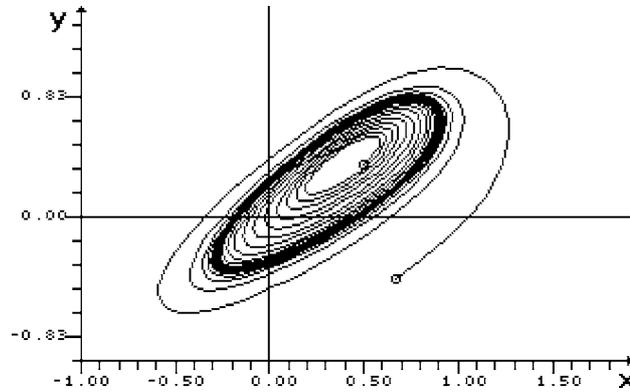


Рис. 2. Результат чисельного моделювання системи.

Згущенню траєкторій відповідає граничний цикл
 Обчислення відповідно до приведеного вище алгоритму дозволяє
 знайти потенційну функцію $\Pi(x, y)$ (9):

$$\Pi(x, y) = \frac{x^4}{12} - \frac{x^2}{2} + \frac{2y^2}{5} + \frac{y}{10}. \quad (9)$$

Лінії рівня потенціалу (9) зображені на рис. 3.

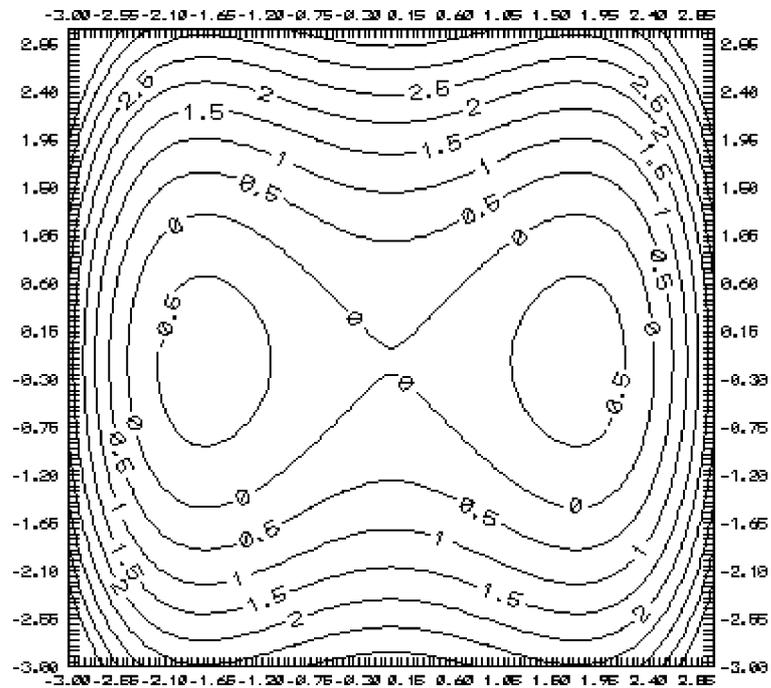


Рис. 3. Лінії рівня потенціалу $\Pi(x, y)$

Розглянутий потенціал має локальні мінімуми в крапках $(\pm\sqrt{3}, -1/8)$ і локальний максимум при $(0, -1/8)$. Потенційну складову одержуємо диференціюванням (10):

$$K_1 = -\frac{\partial \Pi(x, y)}{\partial x} = -\frac{x^3}{3} + x$$

$$K_2 = -\frac{\partial \Pi(x, y)}{\partial y} = -\frac{4}{5}y - \frac{1}{10}. \quad (10)$$

Циркуляційну складову (11) визначаємо виходячи з (2):

$$R_1 = Q_1 + \frac{\partial \Pi(x, y)}{\partial x} = -1/3 x^3 + x - y + \frac{x^3}{3} - x = -y$$

$$R_2 = Q_2 + \frac{\partial \Pi(x, y)}{\partial x} = x - 0.8y - 0.1 + \frac{4}{5}x + \frac{1}{10} = x. \quad (11)$$

Циркуляційне поле тут є соленоїдальним.

Розглянемо, чи може додавання циркуляційних складових і перехід до (2) доповнити термодинамічний опис біологічних процесів (1) так, щоб він охоплював складні динамічні режими. Для цього, наприклад, розглянемо потенціал $\Pi(q)$, мінімум якого M не збігається з початком координат O (рис. 4), у якому знаходиться стан рівноваги системи (1). Результируючі рухи $Q(q)$ динамічної системи задаються сумою циркуляційних сил $R(q)$ і потенційних, тобто наближенням до мінімуму потенціалу $\Pi(q)$ по лініях $-\text{grad}(\Pi(q))$. Додавання цих складових може приводити, зокрема, до появи траєкторії з періодичним наближенням і видаленням від початку координат.

Добре відомо, що при спробі побудови термодинамічного опису складних систем за аналогією з механікою виявляється, що прямій аналогії кінетичної енергії немає — термодинамічні системи не виявляють властивостей інерційності [9]. Покажемо, що непряма аналогія інерції в розглянутому описі, подібному до термодинамічного, є наявною. Це, зокрема, циркуляційні складові, що є соленоїдальними. Хоча циркуляційні складові $R(q)$ і не обов'язково соленоїдальні, тобто можуть містити джерела і стоки, $\text{div}(R(q))$ може бути відмінна від нуля, соленоїдальний варіант включається сюди як найбільш цікавий із пов'язаних з коливальними процесами. Дійсно, у цьому випадку $R(q)$ не змінюється мимовільно, а тільки лише при взаємодії з потенційними силами $\Pi(q)$. При відсутності

в детермінованій системі потенційних сил циркуляційний рух продовжується необмежено довго.

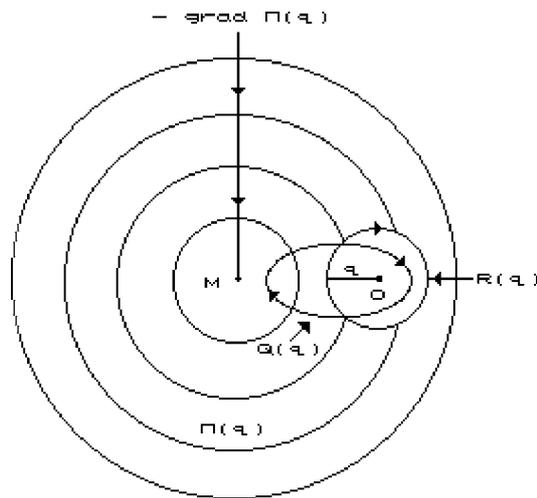


Рис. 4. Основні якісні структури динамічної моделі біологічних процесів $\Pi(q)$ -потенційна функція з мінімумом M , $R(q)$ -циркуляційне векторне поле, $Q(q)$ -результуючі рухи, O -стан рівноваги, що збігає з початком координат, q -радіус-вектор

Ще краще простежити цю аналогію дозволяє розгляд взаємодії потенційних і циркуляційних соленоїдальних складових. Дійсно, з (3, 4, 5) не випливає, що ці два типи рухів співіснують незалежно один від іншого. У цьому випадку скалярний добуток $R(q) \cdot K(q) \neq 0$. Дві фази цієї взаємодії визначаються як $R(q) \cdot K(q) < 0$ (фаза 1) та $R(q) \cdot K(q) > 0$ (фаза 2) відповідно. У зв'язку з описаними особливостями динамічного поведіння можна висловити кілька робочих гіпотез, що безпосередньо стосуються біосистем і процесів у них. Одна з них стосується коливальних режимів біосистем.

Як відомо, більшість природних коливальних режимів істотно відрізняються від гармонійних. Розумно вважати циркуляційні сили своєрідним накопичувачем енергії, що періодично наповняється у фазі 1 і віддає енергію у фазі 2. Це припущення дозволяє дати інтерпретацію деяким формам асиметрії коливань. Один з типових прикладів — асиметрія багатьох форм електрофізіологічної активності, наприклад, α -ритму). Для багатьох подібних випадків характерне розходження швидкості зміни фази коливань, частина коливального руху відбувається швидше (фаза 1), друга частина — повільніше (фаза 2). Можна думати, що інтерпретація подібного роду корисна для уніфікованого погляду на коливальні процеси в біосистемах.

Висновки

1. Розгляд явищ у біосистемах за допомогою методу, близького до нелінійної термодинаміки, стає більш продуктивним при врахуванні циркуляційної складової і дозволяє описати, зокрема, автоколивальні режими.
2. Існує зв'язок циркуляційних рухів з біологічної інерційністю.

Література

1. Романовский Ю. М., Степанова Н. В., Чернавский Д. С. Математическое моделирование в биофизике. — М.: Наука, 1975. — 343 с.
2. Гилмор Р. Прикладная теория катастроф. — М.: Мир, 1984. — Т. 1. — 350 с.
3. Термодинамика биологических процессов / Под ред. Зотина А. И. — М.: Наука, 1976. — 346 с.
4. Колесников А. В. Опис динаміки функціонування нервової клітини з використанням аксіоматичного підходу // Нейрофізіологія. — 1998. — Т. 30, № 4/5. — С. 402–404.
5. Меркин Д. Р. Введение в теорию устойчивости движения. — М.: Наука, 1987. — 304 с.
6. Меркин Д. Р. К вопросу об устойчивости по структуре сил // ПММ. — 1975. — Т. 39, вып. 5. — С. 35–48.
7. Ambruster D. The almost complete dynamics of the FitzHugh Nagumo Equations. In: Nonlinear Dynamics / Ed. A. Guran, World Scientific. — 1997. — P. 89–102.
8. Izhikevich E. Neural excitability, spiking and bursting // Int. J. of Bifurcation and Chaos — 2000. — Vol. 10, N 6. — P. 1171–1266.
9. Бахарева И. Ф. Нелинейная неравновесная термодинамика. — Изд-во Саратовского ун-та, 1976. — 133 с.

А. В. Колесников, Л. М. Карпов

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра физиологии человека и животных,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

О СТРУКТУРЕ ДИНАМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В МОДЕЛЯХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Резюме

Рассматриваются модели биологических систем, основанные на формализме, подобном термодинамическому. Показано, что введение в термодинамическое описание циркуляционной составляющей расширяет его возможности, и позволяют описывать сложные динамические режимы, и, в частности, автоколебательные.

Ключевые слова: биосистемы, модели, термодинамика, циркуляционные движения, периодические процессы.

A. V. Kolesnikov, L. M. Karpov

Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Human and Animal physiology,
Dvoryanskaya, Str.,2, 65026,Ukraine

**ABOUT THE STRUCTURE OF DYNAMIC PROCESSES IN THE
MODELS OF BIOLOGICAL SYSTEMS'**

Summary

The biological system models based on the thermodynamic-like formalism are considered. The introduction of the circulation form to the thermodynamic description increases its possibility and allows' to describe to complex dynamic modes and in particular, autooscillationjnes.

Keywords: biosystems, models, thermodynamics, circulation motion, periodic processes.

УДК 574.34:574.47

А. В. Мацюра

Мелітопольський державний педагогічний університет,
кафедра екології, біорізноманітності та таксономії,
ул. Леніна, 20, Мелітополь, 72312, Україна

**ОСОБЕННОСТИ МАТЕМАТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА
ДИНАМИКИ ЧИСЛЕННОСТИ ПТИЦ**

В статье приводится обзор существующих математических методов оценки динамики численности, показаны недостатки и достоинства каждого метода. Предлагаются оригинальные индексы и методики анализа изменения численности живых организмов.

Ключевые слова: динамика численности, тренд, регрессионный анализ.

Проведение анализа динамики численности сопряжено с определенными трудностями. Прежде всего, это касается разрозненности данных и неадекватного уровня обследования территории. Для получения статистически достоверной информации необходимо также наличие данных об изменениях численности за длительный промежуток времени, что не всегда выполнимо [1–2].

Одним из самых надежных методов изучения динамики является графический анализ изменения численности. Несмотря на привлекательность и простоту, он имеет один существенный недостаток — на основании визуального анализа невозможно выполнить прогноз изменения численности и определить математические параметры ее изменения.

Основным методом математического выражения динамики численности в современной отечественной экологии является вычисление значения среднего и квадратического отклонения. Однако подобный метод имеет низкую информативность для понимания тенденции изменения численности или тренда. Понятие тренда имеет разнообразную трактовку в экологической литературе. Как правило, под словом тренд подразумевается определенная тенденция к изменению численности в течение определенного промежутка времени [3].

В нашей работе рассмотрены основные методы анализа изменения численности, применяемые в вычислительной экологии; на примере данных динамики чайки-хохотуньи *Larus cachinnans* показаны особенности, недостатки и преимущества разнообразных методов.

Материалы и методы

Для анализа мы использовали данные о численности чайки-хохотуньи, гнездящейся на островах Азовского моря и Сиваша в пе-

риод 1973–1998 гг. [4]. Для графического анализа были использованы данные численности вида в десятичных логарифмах. В работе использованы компьютерные программы Statistica 6.0, Trim 3.0, Curve Expert 3.1.

Результаты и обсуждение

Рис. 1 иллюстрирует все преимущества и недостатки графического метода. Численность чайки-хохотуньи подвержена значительным колебаниям, для вида характерны как всплески численности, так и ее резкое падение. Достаточно долгий временной ряд иллюстрирует влияние промежутка времени на анализ — в зависимости от конкретных условий исходных данных можно получить совершенно разный результат. Так, периоду 1980–1984 гг. соответствует постоянное увеличение численности, в течение 1991–1995 гг. происходило снижение численности, 1975–1979 гг. характеризуются относительно стабильной численностью.

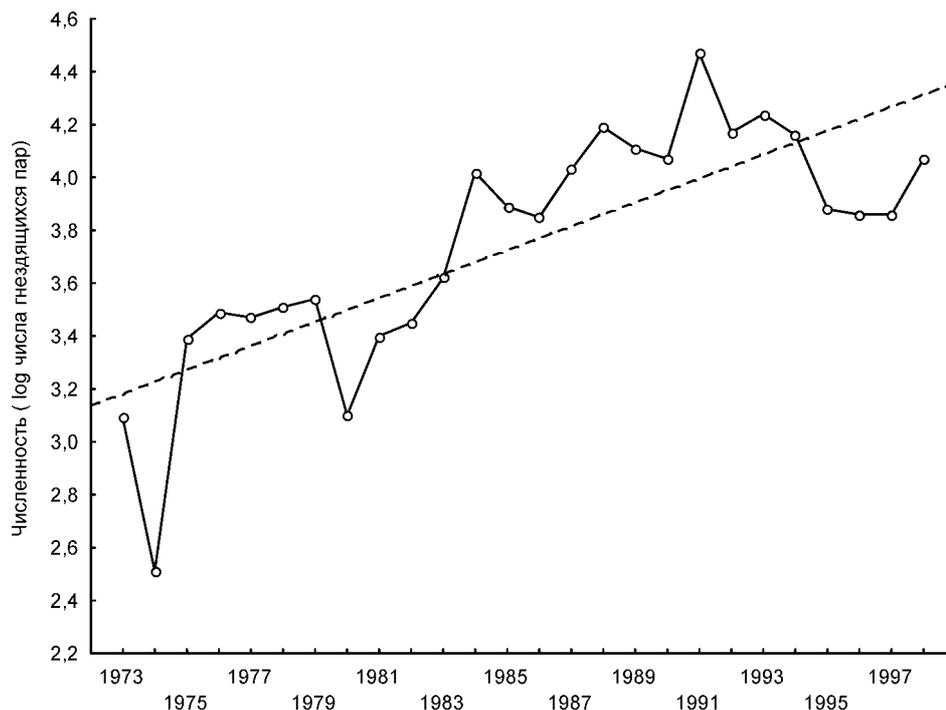


Рис. 1. Динамика численности чайки-хохотуньи. Пунктирной линией обозначена прямая линейной регрессии, уравнение регрессии: $y = 3,14 + 0,05 x$

Регрессионная линия подтверждает существование тенденции к увеличению численности, что определяется положительным значением ее второго коэффициента.

Для выяснения тенденции нами была использована линейная регрессия, однако в реальных условиях зависимость носит более сложный характер.

Для анализа кривой изменения численности нами была использована программа Curve Expert, позволяющая найти оптимальную зависимость между двумя переменными. Программа анализирует около 30 разнообразных зависимостей и выдает наилучшую функцию для данных. При анализе реальная численность сопоставлялась нами с теми же значениями, но с запаздыванием на один год.

Согласно результатам анализа, наилучшим уравнением является многостепенное, причем мы сознательно ограничили значение степени равное 4 (программа позволяет выполнять расчеты вплоть до 20 показателя степени).

Уравнение кривой:

$$y = a + bx + cx^2 + dx^3 + \dots$$

где: $a = 0,0007$; $b = 13,98$; $c = -10,84$; $d = 3,00$; стандартная ошибка 0.239; коэффициент корреляции 0,966.

Для получения информации в виде цифровых величин, выражающих тенденции в изменении численности видов и позволяющих использовать их для прогнозирования орнитологической ситуации, были рассчитаны некоторые коэффициенты (табл. 1), которые используются для характеристики динамики численности.

Таблица 1

Значения показателей, отражающих динамику численности чайки-хохотуны

Средняя плотность, N, пар/100 га	Коэффициент вариации, CV	Коэффициент флуктуации, CF
14,38	0,81	2,75

Примечание: N — пар на 100 га;

$$CV = \sigma/N \tag{1}$$

где: N — среднее значение, σ — стандартное отклонение

$$CF = \Sigma(\log N_i - \log N)/(t - 1) \tag{2}$$

где: N_i — численность вида в момент времени i , t — количество лет.

Коэффициент вариации показывает разброс численности вокруг средних значений, характеризуя относительную стабильность численности, причем данный коэффициент учитывает значение стандартного отклонения, что придает ему повышенную значимость.

Можно характеризовать свойства популяции способом средней плотности на определенную величину площади (в данном случае мы оперировали значением 100 га), а для измерения дисперсии выбрать меру, которая называется коэффициентом флуктуации (2). Этот коэффициент позволяет характеризовать величину флуктуаций численности.

Предполагается, что плотность популяции в различные годы отличается не более чем на величину, равную значению данного коэффициента [5]. Для чайки-хохотуньи в нашем случае средняя плотность будет варьировать в пределах от $N/2,75$ до $N*2,75$, то есть от 5,23 до 39,55 пар на 100 га.

Большинство регулярных составляющих временных рядов принадлежит к двум классам: они являются либо трендом, либо сезонной составляющей. Тренд представляет собой общую систематическую линейную или нелинейную компоненту, которая может изменяться во времени. Сезонная составляющая — это периодически повторяющаяся компонента. Оба эти вида регулярных компонент часто присутствуют в ряде одновременно.

Не существует "автоматического" способа обнаружения тренда во временном ряде [6]. Однако, если тренд является монотонным (устойчиво возрастает или устойчиво убывает), то анализировать такой ряд обычно нетрудно. Если временные ряды содержат значительную ошибку, то первым шагом выделения тренда является сглаживание. В современной экологической литературе под значением тренда, как правило, принимают значение тангенса угла наклона регрессионной прямой [7].

Таблица 2

**Значение тренда численности чайки-хохотуньи
за период 1973–1998 годов**

Значение тренда	Стандартное отклонение	Годовой процент динамики
0,66	0,13	635

Примечание: t — тренд рассчитан при помощи регрессионного анализа как тангенс угла наклона кривой регрессии [7], $p < 0,005$.

Для анализа изменения численности также применяется вычисление годового процента динамики [5]. Начиная с первого года временного ряда, рассчитывается отношение между значением для каждого года и первым годом во временном ряду. Далее вычисляется среднее значение и дисперсия.

Мы предлагаем несколько иной подход — рассчитывается отношение между соседними членами временного ряда и на основании среднего значения выводится годовое изменение численности. Для данного случая годовое изменение численности будет равно 133, что, на наш взгляд, более соответствует реальной картине изменения численности.

Как было показано выше, изменение численности чайки-хохотуни в разные периоды характеризуется неодинаковыми тенденциями.

Для сравнения процессов динамики за разные временные периоды рекомендуется использовать дисперсионный анализ (ANOVA), который определяет различия в характере распределения данных вокруг средних значений в анализируемых временных интервалах. По нашему мнению, хорошие результаты дает t-тест для зависимых выборок, позволяющий учесть эти различия. Данные анализа отражены в таблице 3.

По результатам теста для чайки-хохотуни было характерно более сильное увеличение численности в периоды 1991–1998 гг. и 1981–1991 гг. по сравнению с 1973–1981 гг.

Таблица 3

Тренд численности чайки-хохотуни за различные временные периоды

Годы	1973-1981			1981-1991			1991-1998		
Значения тренда	t	SE	%	t	SE	%	T	SE	%
		0,30	0,39	155	0,61	0,21	128	0,44	0,46

Примечание: t — значения тренда, SE — стандартное отклонение, % — процент годового изменения динамики численности. Тренд рассчитан на основании t-теста для зависимых переменных (средних значений десятичного логарифма численности), $p < 0,01$.

Прикладная компьютерная программа Trim использует несколько иной алгоритм вычисления тренда. В его основе лежит положение об аддитивном и мультипликативном тренд-цикле. Программа предлагает несколько моделей изменения численности — лог-линейная регрессия, сериальная корреляция и линейная регрессия без учета сезонного компонента.

По результатам тестов на достоверность наиболее адекватной моделью для распределения численности чайки-хохотуни является лог-линейная корреляция. При помощи этой модели мы вычислили значения трендов (табл. 4; 5.).

Таблица 4

Значения лог-линейного тренда численности чайки-хохотуни

Значение аддитивного тренда	Стандартное отклонение аддитивного тренда	Значение мультипликативного тренда	Стандартное отклонение мультипликативного тренда
0,11	0,05	1,11	0,05

Значения лог-линейного тренда предполагают, что численность в среднем увеличивается на 10–11% каждый год. Мы также использовали эту программу для анализа временных периодов (1973–1981, 1981–1991, 1991–1998), чтобы сравнить полученные значения с предыдущим анализом (см. табл. 3).

Таблица 5

Значения лог-линейного тренда численности чайки-хохотуны за различные временные периоды

Временной период	Значение аддитивного тренда	Стандартное отклонение	Значение мультипликативного тренда	Стандартное отклонение
1973-1981	0,01	0,003	1,00	0,01
1981-1991	0,22	0,02	1,25	0,03
1991-1998	-0,14	0,03	0,87	0,03

Полученные данные совпадают с результатами предыдущего теста, однако для периода 1991–1998 одно из значений тренда имеет отрицательный знак, что соответствует реальному изменению численности (рис. 2), то есть данная модель более точная.

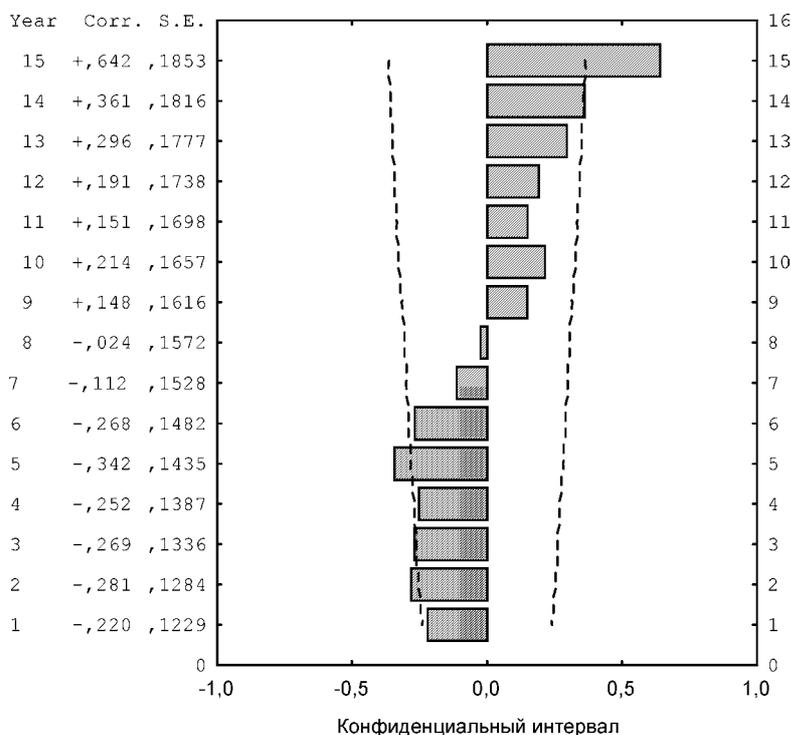


Рис. 2. Correlogramma изменения численности *Larus cachinnans*: Year — порядковый номер года с 1973 по 1997, Corr. — значение коэффициента автокорреляции между предыдущим и последующим значением численности, S. E. — стандартное отклонение

Периодическая и сезонная зависимость (сезонность) представляет собой другой общий тип компонент временного ряда. Периоди-

ческая зависимость может быть формально определена как корреляционная зависимость порядка k между каждым i -м элементом ряда и $(i - k)$ -м элементом [8–9]. Ее можно измерить с помощью автокорреляции (т. е. корреляции между самими членами ряда); k обычно называют *лагом* (иногда используют эквивалентные термины: сдвиг, запаздывание).

Программа Statistica предлагает целый блок подпрограмм для исследования временных рядов. На наш взгляд, для анализа динамики численности птиц более всего подходит вычисление автокорреляций, т. е. меры зависимостей между каждым предшествующим и предыдущим значением временного ряда. Кроме того, данная программа предлагает и графическое отображение результатов, что делает процесс анализа более эффективным.

Сезонные составляющие временного ряда могут быть найдены с помощью коррелограммы. Коррелограмма (автокоррелограмма) показывает численно и графически автокорреляционную функцию (АКФ), коэффициенты автокорреляции (и их стандартные ошибки) для последовательности лагов (временных циклов, в нашем случае — лет) из определенного диапазона. На рис. 2 представлена коррелограмма численности чайки-хохотуньи.

Не всегда данные расположены в соответствии с нормальным распределением (могут быть пропуски данных, недоучеты и переучеты численности). В таком случае целесообразно применить сглаживание данных. Для прогнозирования предпочтительнее экспоненциальное сглаживание, позволяющее учитывать сезонную составляющую и тренд [10]. Сглаживание всегда включает некоторый способ локального усреднения данных, при котором несистематические компоненты взаимно погашают друг друга.

Выводы

1. Для анализа динамики численности птиц необходимо использовать несколько методов.
2. Самым эффективным является сочетание графического метода и метода анализа временных рядов с вычислением коэффициентов автокорреляции.
3. В настоящий момент лучшими программными продуктами для экологических исследований, в частности для анализа динамики численности птиц, являются Curve Expert, Trim, Statistica.

Литература

1. Bibby J., Collins, Burgess D. Neil. Bird Census Techniques. — London: Academic Press, 1992. — P. 153–178.
2. Analysis of monitoring data with many missing values: which method / C. J. F. Ter Braak, A. J. Van Strien, R. Meijer, T. J. Verstrael // Proc. of the 12th International Conference of IBCC and EOAC. — Voorburg (The Netherlands). — 1995. — P. 663–673.

3. *James F. C., Mc Culloch C. E.* Methodological issues in the estimation of trends in bird populations with an example: the pine warbler // *Distribution, monitoring and ecological aspects of birds.* — Voorburg: Heerlen and Sovon, 1994. — 75 p.
4. *Мацюра А. В.* Структура и анализ островных орнитокомплексов юга левобережной Украины: Дис... канд. биол. наук: 03.00.16. — Мелітополь, 1999. — 148 с.
5. *Underhill L. G., Prys-Jones R. P.* Index numbers for waterbird populations: review and methodology // *J. Appl. Ecol.* — 1994. — 31. — P. 463–480.
6. *STATISTICA.* Electronic manual. — StatSoft, Inc.: Bedford, 2002.
7. *Sauer J. R., Droege S.* Survey designs and statistical methods for the estimation of avian population trend // *Survey designs and statistical methods for the estimation of avian populations trends.* — Washington: U. S. Fish and Wildlife service, 1990. — P. 72–77.
8. *Box G. E. P., Jenkins G. M.* Time series analysis: Forecasting and control. — San Francisco: Holden-Day, 1976. — P. 17–32.
9. *Kendall M., Ord J. K.* Time series (3rd ed.). — London: Griffin, 1990. — P. 42–46.
10. *Geisser P. H., Sauer J. R.* Topics in route-regression analysis // *Survey designs and statistical methods for the estimation of avian populations trends.* — Washington: U. S. Fish and Wildlife service. — 1990. — P. 85–97.

О. В. Мацюра

Мелітопольський державний педагогічний університет,
кафедра екології, біорізноманіття і таксономії,
вул. Леніна, 20, Мелітополь, 72312, Україна.

ОСОБЛИВОСТІ МАТЕМАТИЧНОГО АНАЛІЗУ ДИНАМІКИ ЧИСЕЛЬНОСТІ ПТАХІВ

Резюме

У статті наводиться огляд існуючих математичних методів оцінки динаміки чисельності, продемонстровані недоліки та переваги кожного методу. Запропоновано оригінальні індекси та методики аналізу змін чисельності живих організмів.

Ключові слова: динаміка чисельності, тренд, регресійний аналіз.

A. V. Matsyura

Melitopol State University, Department of ecology, taxonomy and biodiversity,
Lenin St., 20, Melitopol, 72312, Ukraine.

MATHEMATICAL ANALYSIS PECULIARITIES OF THE BIRDS OF ABUNDANCE DYNAMICS

Summary

Contemporary mathematical review of the assessment of population dynamics was presented. The main advantages and disadvantages of each method were underlined. The proprietary methods and indices for the estimation of the changes in the abundance dynamics were suggested.

Keywords: abundance dynamics, trend, regression analysis.

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ
ТА ТВАРИН



УДК 612.825:612.822

О. В. Денисенко, ст. викл., **Т. В. Бузика**, асп., **Л. І. Сьомік**, канд. біол. наук, доц., **Л. М. Карпов**, д-р біол. наук, проф.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра фізіології людини та тварин,
вул. Дворянська 2, Одеса, 65026, Україна.
Тел.: (048) 776-01-28, e-mail: ksenia_den@mail.ru

ОСОБЛИВОСТІ НЕЙРОНАЛЬНОЇ АКТИВАЦІЇ СЕНСОМОТОРНОЇ КОРИ ЩУРІВ ПРИ АПЛІКАЦІЇ ГЛУТАМАТУ

У гострих дослідах на ненаркотизованих, знерухомлених щурах внутрішньо- та позаклітинно реєстрували реакції нейронів сенсомоторної кори головного мозку до та після аплікації глутамату. Показано, що при аплікації глутамату спостерігається активація не тільки глутаматергічної синаптичної передачі, але і гальмівної. Генерація синхронізованої активності у виді пароксизмальних деполаризаційних зміщень мембранного потенціалу в усіх випадках супроводжується розвитком слідових гіперполяризаційних потенціалів (СГП). У верхніх та глибинних шарах СГП мали різний компонентний склад. Аналізуючи позаклітинну активність, виявили, що імпульсація нейронів V–VI шарів значно зростала по частоті та амплітуді. У цих шарах реєстрували посилення "пачкоподібного" типу активності зі зростанням тривалості межімпульсних інтервалів. При введенні неспецифічного антагоніста NMDA-рецепторів — кетаміну — достовірні зміни параметрів імпульсації відбувалися тільки у клітинах глибинних шарів.

Ключові слова: сенсомоторна кора, глутамат, пароксизмальна активність, кетамін.

Відомо, що глутамат є одним із основних медіаторів постсинаптичного збудження в гіпокампі, корі головного мозку та інших відділах ЦНС [1]. Нейромедіаторна система збуджуючих амінокислот, зокрема L-глутамату, є чільною збуджуючою системою головного мозку та відіграє важливу роль у регуляції психічних функцій, моторної активності, сприйнятті сенсорної інформації та інших фізіологічних актах. Чисельні патологічні прояви, зокрема судомні стани, гіпоксія головного мозку, деякі харчові отруєння пов'язані з порушенням нормальної роботи глутаматергічної нейропередачі. Однак, дослідження *in vivo* особливостей нейрональної гіперактивації і, як наслідок, виникнення патологічно зміненого типу активності нейронів залишаються актуальними і на цей час.

Мета роботи полягала у вивченні впливу аплікації глутамату на особливості змін нейрональної активності у різних шарах сенсомоторної кори мозку щурів. У зв'язку з цим до задач дослідження входило:

1. Вивчити модуляцію збуджуючої та гальмівної синаптичної коркової передачі при внутрішньоклітинній реєстрації в умовах аплікації глутамату;
2. Дослідити вплив аплікації глутамату на пошарову динаміку коркової позаклітинної нейрональної активності;
3. При застосуванні кетаміну вивчити можливу роль NMDA-рецепторів нейронів різних шарів у розвитку коркової нейрональної гіперактивації.

Матеріали та методи дослідження

Експерименти були проведені на 19 щурах лінії Вістар вагою 200–270 гг. Підготовчі операції здійснювали під етаміналовим наркозом (30 мг/кг, внутрішньоочеревинно). Усі точки фіксації, ранові поверхні обробляли розчином новокаїну. Протягом досліду тварину знерухомлювали за допомогою d-тубокурарину (10 мг/кг) і переводили на штучне дихання. На протязі експерименту безперервно реєстрували електрокортикограму (ЕКоГ) та електрокардіограму (ЕКГ). Оголювали сенсомоторну зону нової кори. Внутрішньокоркові подразнення здійснювали монополярно прямокутними імпульсами струму (1–40 В, 0,2 мс) за допомогою ніхромового електрода (діаметр 200 мкм). Біля подразнюючого електрода розташовували смужку фільтрувального паперу розміром 2 мм x 2 мм, на якому знаходилась канюля, з'єднана з мікрошприцом. Його наповнювали розчином у фізіологічному розчині L-глутаматом ("Sigma", США; 50 мкМ), який подавали до кори в об'ємі біля 10 мкл.

Позаклітинну активність нейронів відводили скляними мікроелектродами з опором 7–15 МОм, які були заповнені розчином ацетату калію (3,0 М). Мікроелектроди для внутрішньоклітинних відведень були заповнені розчинами цитрату калію (2,0 М), KCl (2,0 М) з опором 20–40 МОм. Трепанаційний отвір після встановлювання електродів і канюлі заливали теплим 3% розчином агар-агару. Після розвитку глутамат-викликаної активності здійснювали внутрішньовенне (в/в) введення у хвостову вену розчину кетаміну (10 мг/кг).

Всі одержані результати обробляли статистично із розрахунком середнього значення та стандартного відхилення, а також довірчого інтервалу (P), що використовувався для оцінки ступеня вірогідності відмінностей за допомогою t-критерію Стьюдента. Відмінності вважалися статистично вірогідними при $P < 0,05$. Криві, які відображають електрофізіологічні процеси при внутрішньоклітинних реєстраціях, є суперпозиціями декількох реакцій нейронів.

Результати дослідження та їх обговорення

На внутрішньокоркові подразнення до та після поверхневої аплікації розчину L-глутамату внутрішньоклітинно були зареєстровані реакції 11 нейронів сенсомоторної кори головного мозку щурів.

Більша частина досліджених клітин ($n = 10$) знаходилася на глибині III–VI шарів. Нейрони на ВКП відповідали стандартними реакціями типу: збуджуючий постсинаптичний потенціал (ЗПСП)-гальмівний постсинаптичний потенціал (ГПСП), ЗПСП-пік-ГПСП (рис. 1, А-В). Амплітуда ЗПСП в середньому складала $7,5 \pm 0,3$ мВ, а їх тривалість $18,1 \pm 0,1$ мс. Амплітуда та тривалість ГПСП в середньому складала $5,0 \pm 0,6$ мВ і $140,5 \pm 7,0$ мс. Величина мембранного потенціалу (МП) нейронів в середньому складала $51,5 \pm 1,0$ мВ. Після аплікації глутамату зареєстрували реакції 9 клітин. При цьому розвиток синхронізованої пароксизмальної активності супроводжувався збільшенням амплітуди та тривалості збуджуючих постсинаптичних реакцій з виникненням хвилі пароксизмального деполяризаційного зміщення (ПДЗ) МП (рис. 1, Г1, Д1). Амплітуда та тривалість ПДЗ в середньому досягали $21,0 \pm 2,0$ мВ та $112,0 \pm 4,7$ мс відповідно. Крім того, при активації глутаматних рецепторів відбувалася модуляція гальмівної синаптичної передачі. Усі зареєстровані реакції супроводжувалися слідовими гіперполяризаціями. У різних шарах кори можна було виділити короткі (тривалістю 100–250 мс) і тривалі (400–1000 мс) слідові гіперполяризаційні потенціали (СГП) (рис. 1, Г2, Д2). Короткі гіперполяризації можна було зареєструвати на глибині II–III шарів, а тривалі — на глибині IV–VI шарів. За допомогою мікроелектродів, заповнених KCl, здійснювали реверсію хлорних струмів СГП. СГП верхніх шарів були Cl-опосередковані, а тривалі — мали складну природу і склалися не менш, ніж із двох компонентів. Висока щільність ГАМК_A-рецепторів виявлена саме у верхніх шарах, а низька — у V–VI [2].

Часовий перебіг розвитку синхронізованих розрядів свідчить про те, що при посиленні деполяризаційного потенціалу пригнічення міг зазнавати ранній Cl-залежний компонент СГП із збереженням пізнього.

Дані, отримані при позаклітинних відведеннях, показали, що аплікація глутамату призводить до збільшення ефективності синаптичної передачі по всіх шарах неокортексу. Оцінювали амплітуду (рис. 2), частоту (рис. 3) та тривалість міжімпульсних інтервалів (рис. 4) активності нейронів у кожному шарі. Різні варіанти імпульсації клітин можна поділити на три типи: поодинокі

Реверсію хлорного компоненту слідової гіперполяризації здійснювали за допомогою мікроелектродів, які заповнювали розчином KCl спайки; спайки, згруповані у вигляді окремих "пачок"; проміжні або сумісні форми. Зареєстрований до аплікації тип активності за основними параметрами не відрізнявся від того, що був описаний раніше [3]. При аплікації глутамату активації підпадали клітини усіх шарів сенсомоторної зони кори. Найбільше посилення збуджуючої передачі проявлялося зміною параметрів імпульсації нейронів V та VI шарів, які реагували значним зростанням частоти та амплітуди активності. У меншій мірі ці ж зміни спостерігали з боку активності нейронів верхніх шарів (рис. 2, 3).

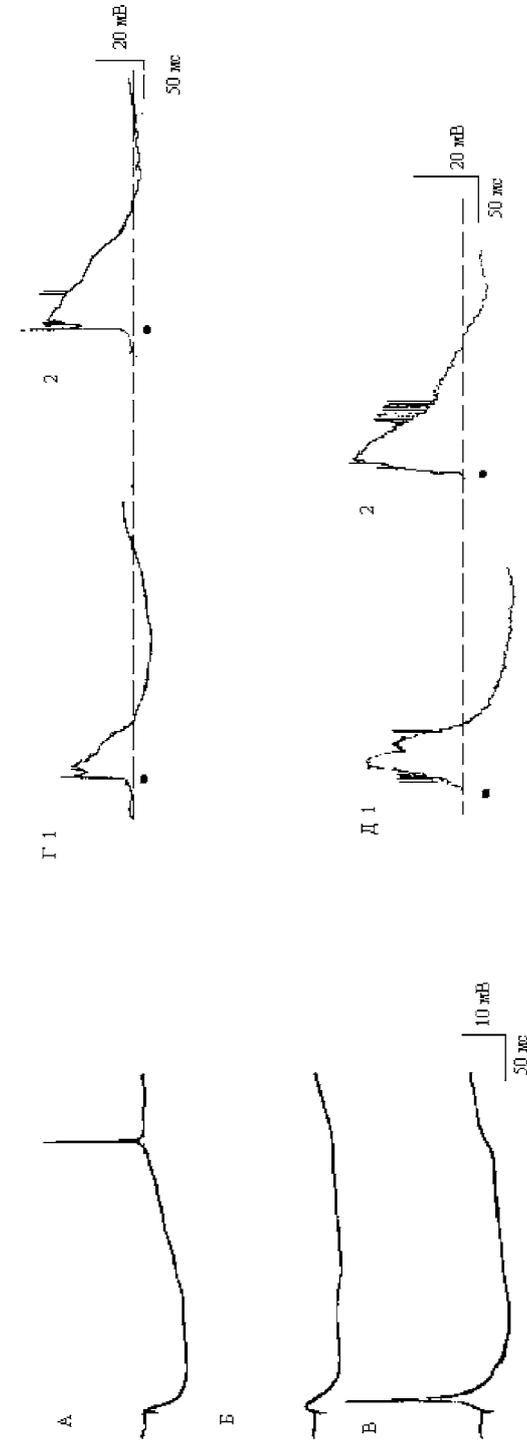


Рис. 1. Постсинаптичні реакції нейронів сенсорної кори щурів до (А, В, В) і після аплікації глутамату (Г, Д): А — первинний ГПСЛ; В — ЗПСЛ-ГПСЛ; В — ЗПСЛ-пк-ГПСЛ; Г — пароксизмальне деполаризаційне зміщення (ПДЗ) мембранного потенціалу з короткою слідвою гіперполяризації (розвивалася у нейронів II, III шарів) до та після реверсії хлорного току; Д — ПДЗ МП нейронів та тривала слідва гіперполяризація (розвивалася у нейронів V, VI шарів) до та після реверсії хлорного току

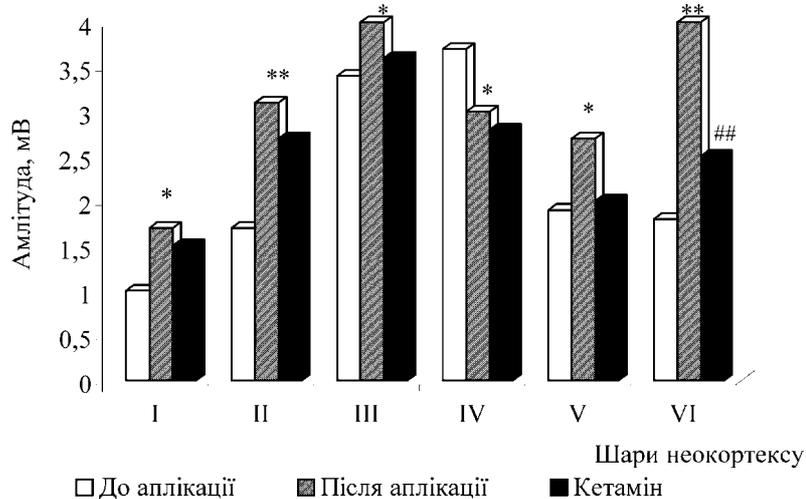


Рис. 2. Пошарові відмінності амплітуди нейрональної активності після аплікації глутамату і введення кетаміну

Примітка: * — $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ — достовірні розходження амплітуди імпульсації нейронів до аплікації глутамату щодо амплітуди після аплікації глутамату; ## — $p < 0,01$ — достовірне розходження амплітуди імпульсації нейронів після аплікації глутамату щодо амплітуди після введення кетаміну.

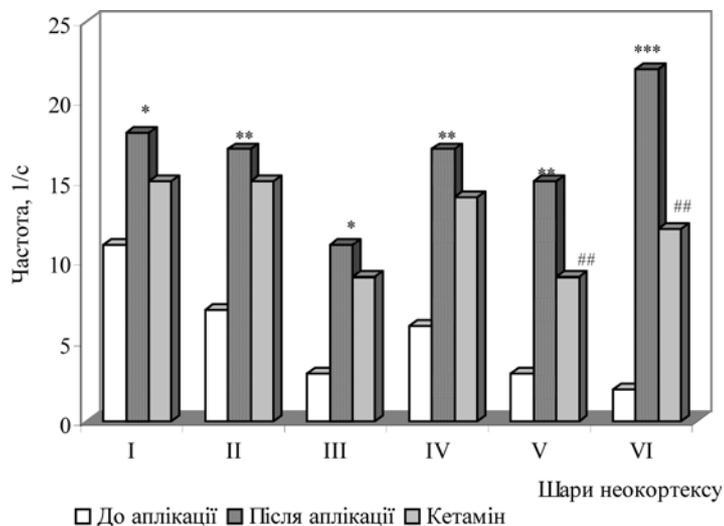


Рис. 3. Пошарові відмінності частоти імпульсації нейрональної активності після аплікації глутамату і введення кетаміну

Примітка: * — $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ — достовірні розходження частоти імпульсації нейронів до аплікації глутамату щодо частоти після аплікації глутамату; ## — $p < 0,01$ — достовірне розходження частоти імпульсації нейронів після аплікації глутамату щодо частоти після введення кетаміну.

Особливості гіперактивації нейронів сенсомоторної кори узгоджуються з даними літератури про важливу роль нейронів глибинних шарів кори у збуджуючій синаптичній передачі [4].

В цілому, при активації виявили два різних варіанти змін рисунка фонові імпульсації нейронів II–III та V, VI шарів. В глибинних шарах реєстрували посилення "пачкоподібного" типу та збільшення частоти спайків у групі і тривалості генерації "пачок" (у VI шарі тривалість складала до аплікації — 655 ± 78 мс, після аплікації — 1581 ± 44 ; у V шарі до аплікації — 406 ± 21 мс, після — 766 ± 34). В той же час у II–III шарах не спостерігали значних змін у типі генерації активності, яка переважно була представлена нетривалими "пачками" спайок або, на відміну від глибинних шарів, поодинокими спайками. Слід зазначити, що одночасно у VI шарі відбувалося підвищення тривалості міжімпульсних інтервалів (рис. 4). Відомо, що у самій корі є перемикаюча система — вставлена гальмівна, клітини якої мають глутаматчутливі рецептори.

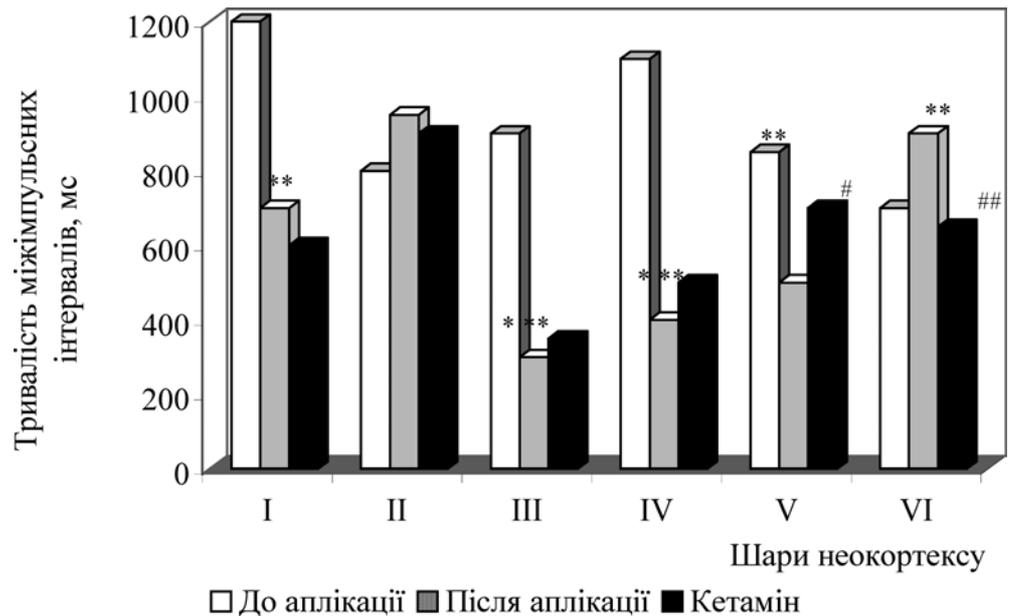


Рис. 4. Пошарові відмінності тривалості міжімпульсних інтервалів нейрональної активності після аплікації глутамату і введення кетаміну

Примітка: ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ — достовірні розходження тривалості міжімпульсних інтервалів нейрональної активності до аплікації глутамату щодо аналогічного показника після аплікації глутамату; # — $p < 0,1$; ## — $p < 0,01$ — достовірне розходження тривалості міжімпульсних інтервалів нейрональної активності після аплікації глутамату щодо аналогічного показника після введення кетаміну.

На нейронах, які отримують аферентну імпульсацію, зокрема зірчастих IV шару та сусідніх ділянок III і V шарів, ці рецептори широко представлені. В цілому, зсув в бік підвищення упорядкованості імпульсного потоку, що відповідає посиленню "пачкоподібного" типу активності зі зростанням інтервалів "мовчання" між цими групами імпульсів, може бути пов'язаний з активацією вище згаданих зірчастих гальмівних клітин [5], аксони яких направляються до верхніх та нижніх шарів. Це сприяє синхронізації активності нейронів з посиленням збуджуючих синаптичних впливів по усьому поперечнику кори. Слід додати, що за внутрішньоклітинних відведень активності від нейронів V–VI шарів розвиток ПДЗ часто супроводжується тривалими слідовими гіперполяризаціями.

За проведення експериментів з неспецифічним антагоністом NMDA-рецепторів — кетаміном — спостерігали незначне зменшення нейротоксичного вкладу глутамату у розвиток патологічного збудження в корі. З'ясували, що при в/в введенні кетаміну на фоні гіперактивації нейрональної активності відбуваються достовірні зміни параметрів імпульсації тільки у клітин глибинних шарів. Після введення кетаміну внутрішньоклітинна реєстрація нейронів III та IV шарів ($n = 3$) не виявила значних змін у перебігу пароксизмальних розрядів. Однак, слід зазначити, що високочастотна (30–40 Гц) внутрішньокоркова стимуляція нейронів не викликала ефекту підвищення патологічного ритму на відміну від результатів, отриманих в умовах аплікації тільки глутамату. За даними літератури, на відміну від гіпокампу, де NMDA і не-NMDA-рецептори мають спільне постсинаптичне розташування [6], у сенсомоторній корі виявляють шари з більшим або меншим представництвом цих рецепторно-каналних комплексів [7]. Виявлено, що на нейронах глибинних шарів у більшому ступені, в порівнянні з іншими шарами, представлена NMDA-рецепція [8]. При цьому інтернейрони середніх шарів не чутливі до блокаторів NMDA-рецепторів і регулюються виключно через не-NMDA-трансмісію [7].

Необхідно відмітити, що за аплікації глутамату ми спостерігали активацію не тільки глутаматергічної системи, але і гальмівної. Аналіз внутрішньо- та позаклітинних відведень показує, що посилення та синхронізація нейрональної імпульсації перед усім відбувається за активації глутаматергічних входів пірамідних нейронів. В міру залучення поворотних шляхів, ритмічного потенціювання, зокрема ГАМК_A-рецепторів, вірогідно, і формується патологічний тип активності. Результати великої кількості досліджень *in vitro* на гіпокампі, різних коркових ділянках з використанням експериментальних моделей без блокування ГАМК_A-рецепторів вказують на розвиток повільної ГАМК_A-залежної деполаризації [9, 10]. Можливо, що модуляція ГАМК_A-ергічної передачі з гальмівної на збуджуючу, при одночасному посиленні глутаматергічної трансмісії, й призводить до розвитку потужної синхронізова-

ної високоамплітудної пароксизмальної активності у пірамідних нейронах верхніх та глибинних шарів.

Отримані результати можуть бути використані за подальшого вивчення механізмів взаємодії збуджуючої та гальмуючої синаптичної передачі, сприяти розумінню особливостей пошкоджуючої дії збуджуючих амінокислот при розвитку розладів ЦНС різної природи.

Висновки

1. За аплікації глутамату активації підпадали клітини усіх шарів сенсомоторної зони кори. Найбільш значні зміни параметрів імпульсації виявили у нейронів V та VI шарів.
2. Посилення нейрональної активності після аплікації глутамату супроводжується активацією не тільки глутаматергічної синаптичної передачі з розвитком пароксизмальних деполяризаційних зміщень мембранного потенціалу, але й гальмівної передачі. У всіх випадках внутрішньоклітинної реєстрації пароксизмальні деполяризаційні зміщення супроводжуються слідовими гіперполяризаційними потенціалами.
3. При введенні кетаміну спостерігається незначне зменшення нейротоксичного впливу глутамату на розвиток патологічного збудження у корі. З'ясувалось, що його застосування на фоні гіперактивації достовірно змінює нейрональну активність тільки у клітинах глибинних шарів кори.

Література

1. Johnson J. W., Koerner J. E. Excitatory amino acid neurotransmission // *J. Med. Chem.* — 1988. — Vol. 31. — P. 2057–2066.
2. Timofeev I., Grenier F., Steriade M. The role of chloride-dependent inhibition and the activity of fast-spiking neurons during cortical spike-wave electrographic seizures // *Neuroscience.* — 2002. — Vol. 114. — P. 1115–1132.
3. Чиженкова Р. А. Структурно-функциональная организация сенсомоторной коры. — М.: Наука, 1986. — 240 с.
4. Лопанцев В. Э., Тараненко В. Д., Одинцова Т. Б. Постсинаптические компоненты пароксизмальных реакций нейронов стрихнинизированной новой коры мозга // *Нейрофизиология.* — 1990. — Т. 22, № 5. — С. 642–643.
5. Zhou F. M., Hablitz J. J. Metabotropic glutamate receptor enhancement of spontaneous IPSPs in neocortical interneurons // *J. Neurophysiol.* — 1997. — Vol. 78, N 5. — P. 2287–2295.
6. Bekkers J. M., Stevens C. F. NMDA and non-NMDA receptors are co-localized at individual excitatory synapses in cultured rat hippocampus // *Nature.* — 1989. — Vol. 341. — P. 230–233.
7. Ling D. S., Benardo L. S. Recruitment of GABA_A inhibition in rat neocortex is limited and not NMDA dependent // *J. Neurophysiol.* — 1995. — Vol. 74, N 6. — P. 2329–2335.
8. Flint A. C., Connors B. W. Two types of network oscillations in neocortex mediated by distinct glutamate receptor subtypes and neuronal populations // *J. Neurophysiol.* — 1996. — Vol. 75, N 2. — P. 951–957.

9. *On the origin of interictal activity in human temporal-lobe epilepsy in vitro* / I. Cohen, V. Navarro, S. Clemenceau, M. Baulac, R. Miles // *Science*. — 2002. — Vol. 298. — P. 1418–1421.
10. *Excitatory GABA input directly drives seizure-like rhythmic synchronization in mature hippocampal CA 1 pyramidal cell* / Y. Fujiwara-Tsucamoto, Y. Isomura, A. Nambu, M. Takada // *Neuroscience*. — 2003. — Vol. 119. — P. 265–275.

О. В. Денисенко, Т. В. Бузыка, Л. И. Семик, Л. М. Карпов

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра физиологии человека и животных,
ул. Дворянская 2, Одесса, 65026, Украина

ОСОБЕННОСТИ НЕЙРОНАЛЬНОЙ АКТИВАЦИИ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ КРЫС ПРИ АППЛИКАЦИИ ГЛУТАМАТА

Резюме

В острых опытах на ненаркотизированных обездвигенных крысах внутри- и внеклеточно регистрировали реакции нейронов сенсомоторной коры головного мозга до и после аппликации глутамата. Показано, что при аппликации наблюдается активация не только глутаматергической синаптической передачи, но и тормозной. Генерация синхронизированной активности в виде пароксизмальных деполяризационных сдвигов мембранного потенциала во всех случаях сопровождалась развитием следовых гиперполяризационных потенциалов (СПП). В верхних и нижних слоях коры СПП имели разный компонентный состав. Анализируя внеклеточную активность, выявили, что импульсация нейронов V–VI слоев значительно увеличивалась по частоте и амплитуде. В этих слоях регистрировали усиление "пачкоподобного" типа активности с увеличением длительности межимпульсных интервалов. При введении неспецифического антагониста NMDA-рецептора — кетамина — достоверные изменения параметров импульсации отмечались только в глубоких слоях коры.

Ключевые слова: сенсомоторная кора, глутамат, пароксизмальная активность, кетамин.

O. V. Denisenko, T. V. Buzyka, L. I. Somik, L. M. Karpov

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

GLUTAMATE APPLICATION EFFECTS ON NEURONAL ACTIVITY SPECIFIC OF RAT SENSORIMOTOR CORTEX

Summary

The intra- and extracellular recording of sensorimotor cortex neuronal reactions was made in the acute experiments on non-narcotized immobilized rats before and after glutamate application. It was shown that the application of the glutamate activate has not only excitatory synaptic transmission, but the inhibitory too. Generation of the paroxysmal depolarizing shifts of the membrane potential was in any case accompanied by afterhyperpolarization (AHP) during the development of synchronized paroxysmal

activity. AHP has got different components in upper the and down cortical layers. As it turned out, the frequency and amplitude of the cortical neurons extracellular activity in the V–VI layers had increased. The form of rhythmic population activity and the duration of the intervals between these oscillations were increased. Non-selective antagonist NMDA-receptors ketamin produced the significant changes only in the V–VI layers.

Keywords: sensorimotor cortex, glutamate, paroxysmal activity, ketamin.

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 інтервали, поля: ліве — 2,5 см, праве — 1,5 см, верхнє — 2 см, нижнє — 2 см), та один екземпляр “роздруковки” 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 РУКОПISУ, 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 аббревіатури 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.

При об'єднанні декількох рисунків або фотографій в один рисунок рекомендується позначати кожен з них прописними літерами знизу. Наприклад:



Рис. Підпис рисунку

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 підписах під рисунком. 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 ефекти без коментарів — всі коментарі та пояснення подаються в "Аналізі результатів". При викладі результатів слід уникати повторення змісту таблиць та рисунків, а звертати увагу на найважливіші факти та певні закономірності, що з них випливають. Математичні (хімічні) формули виконуються засобами внутрішнього редактора формул "Microsoft Equal" і, при потребі, нумеруються.

4.8. У розділі "Аналіз результатів" необхідно показати причинно-результативні зв'язки між встановленими ефектами, порівняти отриману інформацію з даними літератури і наголосити на виявлених нових даних. При аналізі слід посилатися на ілюстративний матеріал статті. Аналіз має закінчуватися відповіддю на питання, поставлені у вступі.

5. ЛІТЕРАТУРА

Список літератури друкується мовою оригіналу відповідної праці. Назви праць у списку літератури розташовуються у порядку цитування в тексті і оформлюються за правилами ВАЖу.

Приклади бібліографічних описань

Книги, монографії

1. Горячковский А. М. Клиническая биохимия. — О.: Астропринт, 1998. — 608 с.
2. Лизосомы. Методы исследования / Под ред. Д. Дингла. — М.: Мир, 1980. — 342 с.
3. Определитель высших растений Украины. — К.: Наук. думка, 1987. — 546 с.
4. Флора УРСР: В 12 т. Т. 10 / АН УРСР. — К., 1965. — 126 с.

Статті з журналів

1. Андриевский А. М., Катаненко С. В., Тоцкий В. Н. Онтогенетические особенности пептидгидролазной активности экстрактов тканей *Drosophila melanogaster* // Укр. биохим. журн. — 1982. — Т. 54, № 5. — С. 519–524.
2. Zhou S., Chhan E., Duan W. Drug bioactivation, covalent binding to target proteins and toxicity relevance // Drug Metab Rev. — 2005. — Vol. 37(1). — P. 41–213.

Збірки

1. Спектр тканевых карбоксиэстераз в онтогенезе суслика крапчатого (*Spermophilus suslicus* Guld.) / А. М. Андриевский, Ю. Н. Олейник, В. А. Кучеров, А. С. Асманская // Генетика в современном обществе: Тез. докл. конф. — Х., 2004. — С. 12.
2. Селекция *in vitro* генотипов пшеницы с комплексной устойчивостью к фузариозу злаков / Е. А. Клечковская, С. А. Игнатова, А. И. Слепченко и др. // Биология клеток растений *in vitro*, биотехнология и сохранение генофонда: Тез. докл. VII Междунар. конф. — М., 1997. — С. 372.
3. De Man J. C., Rogosa M., Sharpe M. E. Cell transfer and Interferon Studies // Abstracts of the V International symposium of immunopharmacology. — Quebec, 2000. — P. 31.

Дисертації, автореферати дисертації

1. Олярник О. О. Дослідження процесів перекисного окислення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту при цукровому діабеті: Автореф. дис... канд. біол. наук: 03.00.04 / Ін-т біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України. — К., 1998. — 17 с.
2. Олярник О. О. Дослідження процесів перекисного окислення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту при цукровому діабеті: Дис... канд. біол. наук: 03.00.04. — К., 1998. — 117 с.
3. Скороход Л. С. Комплексообразование кобальта (II), никеля (II), меди (II) с производными нафталинсульфокислот: Автореф. дис... канд. хим. наук. — О., 1991. — 217 с.

Депоновані наукові роботи, патенти, авторські свідоцтва

1. Рябушко Л. И. Микрофитобентос Филлофорного поля Зернова. — Севастополь, 1991. — 28 с. — Деп. в ВИНТИ 11.07.91 г., № 2981-В91.
2. Патент України СО7Д 243/24 ФС № 953812. Способ отримання 3-окси-7-бром-5(орто-лор)-бенздиазепина. — № 19803; Заявл. 09.04.90; Опубл. 22.06.92; НКИ 355/68. — 3 с.
3. Чеботарев А. Н., Малахова Н. М. Активизация мыслительной деятельности студентов в процессе обучения аналитической химии. — О., 1987. — Деп. НИИ ПВШ № 161.

Скорочення назв міст при вказівці міста видання: Київ — К.; Львів — Л.; Одеса — О.; Харків — Х.; Москва — М.; Ленінград — не скорочується; Санкт-Петербург С.Пб.; Сімферополь — Сімф.; Дніпропетровськ — Д.; Ростов на Дону — Ростов н/Д.

6. 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) подається мовою оригіналу статті разом з прізвищем та ініціалами автора на окремому аркуші.

Редколегія має право редагувати текст статей, рисунків та підписів до них, погоджуючи відредагований варіант з автором, а також відхиляти рукописи, якщо вони не відповідають вимогам “Вісника ОНУ”. Рукописи статей, що прийняті до публікування, авторам не повертаються.

Odessa National University Herald

•

Вестник Одесского национального университета

•

ВІСНИК
ОДЕСЬКОГО
НАЦІОНАЛЬНОГО
УНІВЕРСИТЕТУ

Том 11 • Випуск 9 • 2006

Біологія

Українською та російською мовами

Технічний редактор *Г. О. Куклева*

Підписано до друку 28.11.2006. Формат 70×108/16.
Папір офсетний. Гарнітура SchoolBook. Друк офсетний. Ум. друк. арк. 19,6.
Тираж 100 прим. Зам. № 345.

Надруковано у друкарні видавництва “Астропринт”
65082, м. Одеса, вул. Преображенська, 24.
Тел.: 726-98-82, 726-96-82, 37-14-25

www.astroprint.odessa.ua