МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ, МОЛОДІ ТА СПОРТУ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА

Odesa National University Herald

•

Вестник Одесского национального университета

•

ВІСНИК ОДЕСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ

Серія: *Біологія*
Науковий журнал
Виходить 4 рази на рік
Серія заснована у липні 2007 р.

Том 17, випуск 3(28) 2012

Одеса
2012

Засновник та видавець:
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Редакційна колегія журналу:
І. М. Коваль *(головний редактор)*, О. В. Запорожченко *(заступник головного редактора)*, В. О. Іваниця (*заступник головного редактора)*, Є. Л. Стрельцов *(заступник головного редактора)*, С. М. Андрієвський, Ю. Ф. Ваксман, В. В. Глєбов, Л. М. Голубенко, Л. М. Дунаєва, В. В. Заморов, В. Є. Круглов, В. Г. Кушнір, В. В. Менчук, О. В. Сминтина, В. І. Труба, О. В. Тюрін, Є. А. Черкез, Є. М. Черноіваненко

Редакційна колегія серії:
В. О. Іваниця, д.б.н, професор; Б. М. Галкін, д.б.н, професор; Л. М. Карпов, д.б.н, професор; О. М. Слюсаренко, д.б.н, професор; В. П. Стойловський, д.б.н, професор; С. А. Петров, д.б.н, професор; Ф. П. Ткаченко, д.б.н, професор; В. М. Тоцький, д.б.н, професор; Т. О. Філіпова, д.б.н, професор; Л. Б. Котлярова, к.філол.наук, доцент; Б. Г. Александров, д.б.н, професор *(науковий редактор)*; Г. В. Майкова, к.б.н., доцент – *(відповідальний секретар)*

Відповідно до постанови Президії ВАК України №1-05/6 від 14.06.2007 р.
науковий журнал «Вісник Одеського національного університету. Біологія»
входить до Переліку наукових фахових видань України

Українською, російською та англійською мовами

Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу інформації
Серія КВ № 11455-328Р від 7.07.2006 р.

Затверджено до друку Вченою радою
Одеського національного університету
імені І. І. Мечникова
Протокол № 2 від 30 жовтня 2012 р.

Адреса редакції: 65082, м. Одеса, вул. Дворянська, 2
Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
Тел: (+380-48) - 68-79-32
E-mail:gerald.biology.onu@gmail.ru

© Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, 2012

ЗМІСТ

БІОХІМІЯ

О. М. Андрієвський, Ю. М. Олійник, Г. С. Асманська

МОЛЕКУЛЯРНІ ФОРМИ КАРБОКСИЕСТЕРАЗ ОРГАНІВ І ТКАНИН ХОВРАХА КРАПЧАСТОГО *SPERMOPHILUS SUSLICUS* (GULD.) В ПІЗНЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ОНТОГЕНЕЗУ..... 7

З. Є. Захарієва,О. К. Будняк, Н. Л. Федорко, С. С. Чернадчук, О. Л. Будняк, О. І. Данилова, О. В. Запорожченко

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ У ЩУРІВ В УМОВАХ ЇХ УТРИМУВАННЯ НА РАЦІОНІ З ДОДАННЯМ КОРМОВИХ ДОБАВОК З РІПАКУ 19

Р. Я. Іскра

ВПЛИВ ЦИТРАТУ ХРОМУ НА СТАН СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В КРОВІ ТА ТКАНИНАХ ВАГІТНИХ ЩУРІВ.....27

Г. М. Левчук, О. М. Войтович, В. О. Лях

ЛЕКТИНОВА АКТИВНІСТЬ КИСЛОЇ ЛІПАЗИ НАСІННЯ ЛЬОНУ ОЛІЙНОГО (*LINUM HUMILE* MILL.) 33

БОТАНІКА, ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

О. М. Вергун, О. В. Шиманська, Д. Б. Рахметов

БІОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОСЛИН РОДУ *GALEGA* L. В ПРАВОБЕРЕЖНОМУ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ 43

ЗООЛОГІЯ

Л. М. Янович

ОЛІГОХЕТА *CHAETOGASTER LIMNAEI* BAER, 1827 (ANNELIDA: OLIGOCHAETA: TUBIFICIDAE) – ПАРАЗИТ ПЕРЛІВНИЦЕВИХ (MOLLUSCA: BIVALVIA: UNIONIDAE) З БАСЕЙНУ ДУНАЮ УКРАЇНИ 53

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН

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

ОСОБЛИВОСТІ АДАПТАЦІЙНОЇ ДІЇ СПІРУЛІНИ І ЇЇ МУТАНТНИХ ШТАМІВ В УМОВАХ СТРЕСУ.....61

ОГЛЯДИ

Т. В. Васильєва

ВІРА ВІКТОРІВНА ПРОТОПОПОВА: ОСНОВНІ ВІХИ НАУКОВО-ПЕДАГОГІЧНОЇ ДІЯЛЬНОСТІ 73

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ 75

СОДЕРЖАНИЕ

БИОХИМИЯ

А. М. Андриевский, Ю. Н. Олейник, А. С. Асманская

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФОРМЫ КАРБОКСИЭСТЕРАЗ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ СУСЛИКА КРАПЧАТОГО *SPERMOPHILUS SUSLICUS* (GULD.) В ПОЗДНЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА 7

З. Е. Захариева, А. К. Будняк, Н. Л. Федорко, С. С. Чернадчук, Е. Л. Будняк, Е. И. Данилова, А. В. Запорожченко

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У КРЫС В УСЛОВИЯХ ИХ СОДЕРЖАНИЯ НА РАЦИОНЕ С ДОБАВЛЕНИЕМ КОРМОВЫХ ДОБАВОК ИЗ РАПСА 19

Р. Я. Искра

ВЛИЯНИЕ ЦИТРАТА ХРОМА НА СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В КРОВИ И ТКАНЯХ БЕРЕМЕННЫХ КРЫС ..27

А. Н. Левчук, Е. Н. Войтович, В. А. Лях

ЛЕКТИНОВАЯ АКТИВНОСТЬ КИСЛОЙ ЛИПАЗЫ СЕМЯН ЛЬНА МАСЛИЧНОГО (*LINUM HUMILE* MILL.) 33

БОТАНИКА, ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Е. Н. Вергун, О. В. Шиманская, Д. Б. Рахметов

БІОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАСТЕНИЙ РОДА *GALEGA* L. В ПРАВОБЕРЕЖНОЙ ЛЕСОСТЕПИ УКРАИНЫ.....43

ЗООЛОГИЯ

Л. Н. Янович

ОЛИГОХЕТА *CHAETOGASTER LIMNAEI* BAER, 1827 (ANNELIDA: OLIGOCHAETA: TUBIFICIDAE) – ПАРАЗИТ ПЕРЛОВИЦЕВЫХ (MOLLUSCA: BIVALVIA: UNIONIDAE) ИЗ БАССЕЙНА ДУНАЯ УКРАИНЫ 53

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Л. М. Карпов

ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИОННОГО ДЕЙСТВИЯ СПИРУЛИНЫ И ЕЕ МУТАНТНЫХ ШТАММОВ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА 61

ОБЗОРЫ

Т. В. Васильева

ВЕРА ВИКТОРОВНА ПРОТОПОПОВА: ОСНОВНЫЕ ВЕХИ НАУЧНО-ПЕДАГОГИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ 73

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ 75

БІОХІМІЯ

УДК 577.152.31:591.36:599.322.2

А. М. Андриевский[1], к.б.н., доцент
Ю. Н. Олейник[2], к.б.н., доцент
А. С. Асманская[2], магистр
Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,
[1] кафедра генетики и молекулярной биологии,
[2] кафедра зоологии;
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина, e-mail: andriev_scar@mail.ru

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФОРМЫ КАРБОКСИЭСТЕРАЗ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ СУСЛИКА КРАПЧАТОГО *SPERMOPHILUS SUSLICUS* (GULD.) В ПОЗДНЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА

Получены данные о распределении карбоксиэстераз в органах и тканях суслика крапчатого. Исследовали кровь, сердце, головной мозг, отделы желудочно-кишечного тракта, половые железы самцов и самок, а также щитовидную и поджелудочную железы, печень. Установлена специфичность и характер проявления карбоксиэстераз в отдельных органах половозрелых особей крапчатого суслика в позднем постнатальном развитии.

Ключевые слова: эстеразы, постнатальное развитие, *Spermophilus suslicus*.

Популяционная экология крапчатого суслика в северо-западном Причерноморье интенсивно изучается уже на протяжении почти сорока лет [6]. Получены данные о пространственном распределении особей, особенностях размножения на разных стадиях формирования колоний, изменении размерно-массовых показателей. Однако данные экологических исследований не обладают достаточной разрешающей способностью, необходимой для объяснения механизмов внутрипопуляционной дифференциации, развития и преобразования популяций во времени. Это определяет необходимость проведения исследования генетической структуры популяций, физиологической разнокачественности, а также полиморфизма по отдельным признакам биохимического фенотипа у изучаемого объекта.

В то же время уровень популяционно-генетической изученности большинства видов в силу ряда причин (малочисленность вида, труднодоступность, длительность смены поколений и т. п.), даже с использованием метода электрофоретического анализа белков и ферментов, относительно невысок [5, 10]. Остается невысокой и степень изученности природных популяций беличьих, в том числе и сусликов [4, 7, 8]. Следует отметить, что подобного рода исследования зачастую проводятся без учёта особенностей популяционной экологии вида. Однако только в сочетании с данными, отражающими экологическую специфику вида, аллозимный анализ, анализ частот морф сбалансированного полиморфизма в пределах ареала может указать на роль средовых факторов в развитии и дифференциации популяций. Ввиду того, что эстеразы представляют собой многочисленное семейство гидролитических ферментов, участвующих в различных процессах, обеспечивающих жизнедеятельность организма животных, их целесообразно использовать в качестве маркерных энзимов, позволяющих изучать как онтогенетические, так и популяционные изменения [2, 3].

© А. М. Андриевский, Ю. Н. Олейник, А. С. Асманская, 2012

Это и определило цель исследования – изучить полиморфизм карбоксиэстераз крапчатого суслика *Spermophilus suslicus*.

Материал и методы исследования

Материалом для исследований послужили суслики, добытые весной 2004–2005 годов из рядом расположенных поселений в Овидиопольском районе Одесской области. Для изучения распределения карбоксиэстераз в органах и тканях суслика было использовано 10 самцов и 12 самок.

Для разделения белков кислой природы в работе использовали метод щелочного электрофореза в полиакриламидном геле с помощью аппарата для электрофореза с вертикально расположенными пластинами [1, 9]. Путём проведения реакции одновременного азосочетания нафталов с прочным синим идентифицировали молекулярные формы тканевых карбоксиэстераз.

Исходным экспериментальным материалом служили следующие ткани и органы: цельная кровь, печень, сердце, желудок, средний отдел тонкого кишечника, щитовидная железа, головной мозг, семенники (яичники), придатки семенника, поджелудочная железа взрослых половозрелых самцов и самок. Выделение указанных органов и тканей проводили после наркотизации животных хлороформом с соблюдением норм биологической этики при экспериментальной работе с животными.

Для получения экстрактов гомогенизировали 100–200 *мг* навески ткани или органа в 600 – 1 200 *мкл* буфера (соотношение 1 : 6) глицин-*NaOH* 0,1 *М* (*pH* = 9,0) + 1 % тритона *X*-100 в фарфоровой ступке с помощью фарфорового пестика. Гомогенаты центрифугировали в течение 15 *мин* при 10 000 *g*. Надосадочную жидкость собирали и хранили в морозильной камере при –15 ^{o}C в течение месяца. Полученные экстракты использовали для электрофоретического разделения содержащихся в них карбоксиэстераз. Пробы, полученные от особей 2005 года, с целью снижения экспрессии содержащихся в них карбоксиэстераз были разведены дистиллированной водой в два раза.

Разделяющая фаза носителя представляла собой пластинчатый блок (140 × 120 × 1 *мм*) с концентрацией полиакриламидного геля 10 %. Для приготовления геля использовали реактивы венгерского производства (фирма "*Reanal*").

Полученные экстракты вносили в промытые электродным буфером слоты в объёме 20 *мкл* с добавкой 5 *мкл* 60 % раствора сахарозы с 0,01 % бромфеноловим синим, применяемым в качестве лидирующего красителя. Сразу после нанесения проб на стартовую поверхность геля устанавливали электрический ток силой 5 *мА* (на 10 *мин*) и 10 *мА* (на 20 *мин*), затем 20 *мА* в расчёте на один гелевый блок. После достижения лидирующим красителем финишного уровня (через 3–4 часа) форез прекращали, высвобождали гелевые блоки, многократно отмывали их от внутреннего буфера (исходное значение *pH* = 8,9) и использовали для гистохимического выявления карбоксильных эстераз. После нейтрализации внутригелевой среды каждый отдельный блок выдерживали в 50 *мл* нейтрального буфера в течение 10–15 *мин*.

Инкубационную среду для фиксированного в геле фермента готовили на 0,1 *М* фосфат-фосфатном буфере (*pH* = 7,4). Каждую гелевую пластину помещали в пенопластовую кювету и заливали 50 *мл* буфера, содержащего смеси субстратов,

взятых в количестве 25 *мг*, соответственно, а также прочный синий *RR* в количестве 50 *мг*.

В работе было использовано два вида субстрата: α-нафтилацетат и β-нафтилацетат. Продукт азосочетания α-нафтола с диазонием окрашен в чёрно-коричневый цвет, тогда как продукт реакции β-нафтола с синим прочным обладает пурпурной окраской. Это даёт возможность идентифицировать изучаемые карбоксиэстеразы по их стереохимической субстратной специфичности.

Все субстраты, а также прочный синий перед введением в буфер растворяли в 100 *мкл* диметилформамида. Реакция гидролиза субстратов и азосочетания при +25 *°С* длилась в течение часа. Для гелей с пробами от особей 2005 года данную реакцию проводили в течение 10 *мин*. После экспозиции реакционные смеси удаляли, а гели многократно промывали дистиллированной водой и, в случае необходимости, очищали от мелкодисперсного осадка азокрасителя с помощью мягкой кисти.

Влажные отмытые гелевые блоки сканировали, а затем денситометрировали и обрабатывали с помощью компьютерной программы – анализатора изображений спектров «*АнаИС*». Оптическую плотность (*Od*) ферментных фракций, отражающую уровень экспрессивности эстераз, выражали в относительных единицах.

По коэффициенту относительной электрофоретической подвижности (*Rf*) полученные спектры тканевых карбоксиэстераз разделены на три основные группы. Группа, обладающая наибольшей электрофоретической подвижностью (дальше всех располагается от линии «старта») обозначена под № 1, её границы составляют от 0,510 и выше, а фракции эстераз, прошедшие наименьший путь – как № 3 (0,000 до 0,250). В рамках этой группы электрофоретические фракции образуют две подгруппы: первая с границами от 0,000 до 0,130, и вторая с границами от 0,180 до 0,250. Между первой и третьей *Rf*-группами располагается комплекс фракций карбоксиэстераз № 2 (0,260–0,500).

Результаты исследования и обсуждение

Изучение биохимического полиморфизма ферментов на первых этапах требует определения их локализации в организме (органы и ткани), присутствие и проявление их активности у представителей разных полов, возрастных групп.

Спектр эстераз отражает многокомпонентность комплекса, в котором можно идентифицировать целый ряд энзимов. Выделенные из разных органов половозрелых особей крапчатого суслика ферменты этого комплекса, способные расщеплять сложные эфиры, нами были типированы как карбоксиэстеразы.

Исследуя электрофоретические спектры эстераз взрослых особей крапчатого суслика, нами установлена разная степень присутствия ферментов этой группы в тканях и органах данного вида. Фракции эстераз оказались наиболее многочисленны в крови, печени, желудке, кишечнике, половых железах (семенники, яичники), придатках семенника. В то же время в миокарде, головном мозге, щитовидной и поджелудочной железах карбоксиэстеразы встречаются в значительно меньшем числе молекулярных форм.

Анализ субстратной специфичности выделенных из разных органов половозрелых особей крапчатого суслика карбоксиэстераз указывает на наличие двух групп: α-фильных и β-фильных карбоксиэстераз. По числу форм эти группы представлены неодинаково. Присутствие α-фильной группы карбоксиэстераз

установлено у самцов и самок во всех исследуемых органах и тканях, за исключением головного мозга. *β*-Фильная группа ферментов зафиксирована в крови, печени, миокарде, головном мозге, семенниках, яичниках и поджелудочной железе.

В крови, печени, сердце, желудке, кишечнике, семенниках обнаружены все три *Rf*-группы (табл. 1). В поджелудочной железе и придатках семенников *Rf*-групп две: вторая и третья. В щитовидной железе и головном мозге установлено присутствие только наиболее медленных фракций эстераз, принадлежащих к *Rf*-группе № 3.

У половозрелых самцов электрофоретические группы эстераз отличаются своей вариабельностью. В группе наиболее «быстрых» эстераз (диапазон 0,510–0,620) наибольшее число фракций (от 3 до 5-ти) (рис. 1, 2; табл. 1).

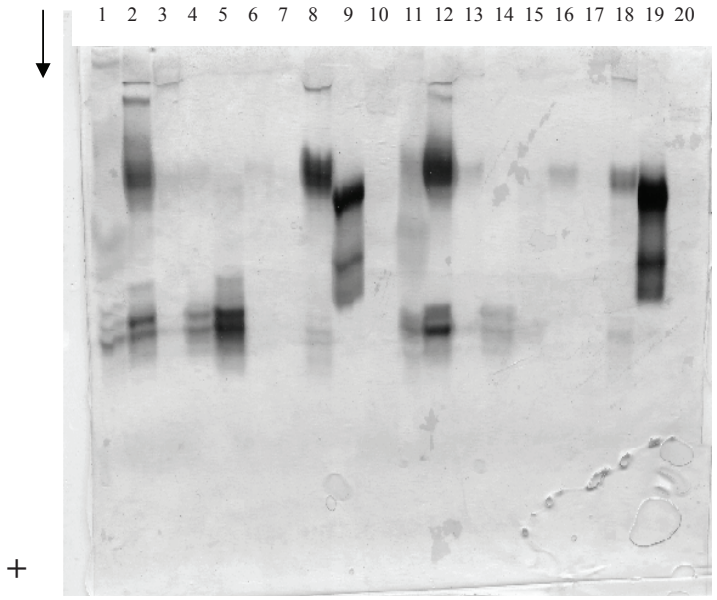

Рис. 1. Электрофоретический спектр карбоксиэстераз органов и тканей самцов (2004 год) суслика крапчатого:
Субстраты: *α*-нафтилацетат + *β*-нафтилацетат.
Треки: 1, 11 – кровь; 2, 12 – печень; 3, 13 – сердце; 4, 14 – желудок; 5, 15 – кишечник; 6, 16 – щитовидная железа; 7, 17 – головной мозг; 8, 18 – семенник; 9, 19 – придаток семенника; 10, 20 – поджелудочная железа (1 – 10 – ♂1, поселение № 1; 11 – 20 – ♂2, поселение № 2).

Самые медленные из электрофоретического спектра эстеразы отличаются большей вариабельностью по числу молекулярных форм: на электрофореграммах отмечено от 1 до 4-х фракций. Эстеразы этой группы преимущественно представлены 1-ой или 2-мя фракциями. Последнее может рассматриваться как косвенное подтверждение предполагаемого выше деления этой группы на 2 подгруппы.

Наиболее разнообразен спектр карбоксиэстераз по количеству фракций в крови (12) (в самом сердце их обнаруживается только 6). Число фракций эстераз в пищеварительной системе несколько меньше: в печени – на четверть, в желудочно-кишечном тракте (желудок, тонкий кишечник) примерно на 50 % (6 и 7 фракций, соответственно). В поджелудочной железе установлено присутствие только 4-х фракций. Резко различаются электрофоретическими спектрами семенники и придатки семенников – 8 и 4 фракции, соответственно. Наименьшее разнообразие карбоксиэстераз по коэффициенту подвижности характерно для щитовидной железы и головного мозга (2 фракции).

Экспрессивность карбоксиэстераз (по показателям оптической плотности соответствующих электрофоретических фракций) в исследуемых органах и тканях имеет такой же характер, как и распределение по коэффициенту подвижности (*Rf*). Наибольшая экспрессия наблюдается у изоформ карбоксиэстераз крови (до 0,797), печени (до 2,110), желудочно-кишечного тракта (0,819–1,910), семенников и их придатков (до 3,720) (рис. 1; табл. 2). Наименьшая экспрессия по данному признаку наблюдается в сердце, головном мозге, щитовидной железе и поджелудочной железе, где она составляет в среднем около 0,400.

Не изменяется наблюдаемая тенденция и при разбавлении (в 2 раза) экстрактов соответствующих органов и тканей. Так, у самцов, добытых в 2005 году, наблюдается уменьшение лишь абсолютных показателей экспрессии по оптической плотности: в печени (до 1,900), желудочно-кишечном тракте (0,627–0,690), придатках семенников (0,212–0,418). В сердце установлено присутствие фракций как с невысокой (0,251), так и с повышенной экспрессией (0,378) (рис. 2, табл. 2). В половых железах изменений в экспрессии при разведении экстрактов не установлено.

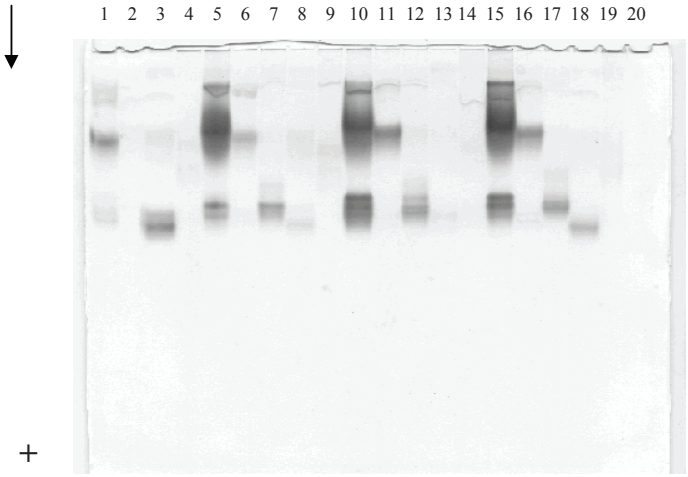

Рис. 2. Электрофоретический спектр карооксиэстераз органов и тканей самцов (2005 год) суслика крапчатого:
Субстраты: α-нафтилацетат + β-нафтилацетат. Треки: 1, 6, 11, 16 – сердце; 2, 7, 12, 17 – желудок; 3, 8, 13, 18 – кишечник; 4, 9, 14, 19 – придаток семенника, 5, 10, 15 – печень.

Таблица 1

Характеристика молекулярных форм карбоксиэстераз у половозрелых самцов и самок суслика крапчатого по коэффициенту относительной электрофоретической подвижности

Ткани, органы	Группы по *Rf*	Самцы (*n* = 10)		Самки (*n* = 12)	
		2004 год (*min – max*)	2005 год (*min – max*)	2004 год (*min – max*)	2005 год (*min – max*)
Кровь	1	0,530 – 0,610 (3)	–	0,580 – 0,630 (3)	–
	2	0,350 – 0,500 (3)		0,310 – 0,420 (3)	
	3	0,014 – 0,240 (4)		0,120 – 0,180 (1)	
Печень	1	0,510 – 0,580 (3)	–	0,590 – 0,690 (3)	–
	2	0,290 – 0,460 (2)	0,330 – 0,380 (3)	0,310 – 0,320 (1)	0,290 – 0,480 (5)
	3	0,069 – 0,250 (4)	0,042 – 0,190 (4)	0,100 – 0,180 (2)	0,015 – 0,220 (4)
Сердце	1	0,510 – 0,580 (3)	–	0,610 (1)	–
	2	–	0,350 – 0,400 (2)	0,310 (1)	
	3	0,037 – 0,250 (3)	0,073 – 0,210 (3)	0,094 – 0,110 (2)	
Желудок	1	0,510 – 0,580 (3)	–	0,580 – 0,640 (4)	–
	2	0,500 (1)	0,280 – 0,370 (4)	0,310 – 0,480 (2)	0,340 – 0,480 (4)
	3	0,056 – 0,240 (2)	0,068 – 0,140 (1)	0,110 – 0,210 (1)	0,100 – 0,240 (2)
Тонкий кишечник	1	0,510 – 0,570 (3)	–	0,640 – 0,660 (1)	0,510 (1)
	2	0,270 – 0,470 (3)	0,380 – 0,410 (2)	0,330 (1)	0,400 – 0,500 (3)
	3	0,054 – 0,062 (1)	0,044 – 0,200 (3)	0,110 – 0,210 (2)	0,120 – 0,240 (2)
Щитовидная железа	1	–	–	–	–
	2	–		–	
	3	0,050 – 0,240 (2)		0,091 – 0,200 (1)	
Головной мозг	1	–	–	–	–
	2	–		–	
	3	0,042 – 0,070 (1)		0,072 – 0,200 (1)	
Половые железы	1	0,510 – 0,620 (5)	–	0,610 (1)	–
	2	0,260 (1)		0,310 – 0,380 (2)	0,480 (1)
	3	0,060 – 0,250 (2)		0,078 – 0,190 (2)	0,088 – 0,160 (1)
Придаток семенника	1	–	–	–	–
	2	0,290 – 0,480 (4)	0,270 – 0,360 (3)		
	3	–	0,069 – 0,220 (3)		
Поджелудочная железа	1	–	–	0,630 (1)	–
	2	0,290 – 0,370 (2)		0,320 – 0,410 (3)	
	3	0,120 – 0,130 (2)		0,190 – 0,230 (2)	

Примечание: электрофоретическая подвижность эстераз выражена в относительных единицах в диапазоне минимальных (min) и максимальных (max) значений; «–» – данные отсутствуют; в скобках указано число фракций карбоксиэстераз.

Самцы 2004 и 2005 годов, которые были взяты из разных поселений, исследовались при несколько различающихся условиях, поэтому сравнивать данные можем только по коэффициенту относительной электрофоретической подвижности и тканевому спектру эстераз. Во всех полученных электрофоретических спектрах самцов 2005 года были обнаружены только вторая и третья группы *Rf*, тогда как из соответствующих органов самцов 2004 года она отсутствует только в придатках семенников. Вторая группа *Rf*, обнаруженная в сердце самцов 2005 года, отсутствует в сердце самцов 2004 года.

В сердце самцов 2005 года выявлены вторая и третья группы *Rf*, а в сердце самцов 2004 года только вторая группа. Вторая группа *Rf* у самцов 2005 года более разнообразна по спектрам эстерази представлена в печени и желудке, а у самцов 2004 года – в кишечнике и придатках семенников.

Во многом сходен у самок и самцов и электрофоретический спектр фракций во второй и третей группах, выделяемых по коэффициенту подвижности. В этих группах у самок установлено присутствие от 1 до 3-х фракций во второй и 1–4 – в третьей. Третья группа — электрофоретически самая подвижная – представлена несколько меньшим числом фракций (1–4) по сравнению с таковым у самцов (3–5). В то же время величина коэффициента *Rf* фракций, входящих в эту группу, имеет более высокие значения параметра, чем у самцов (табл. 1).

У половозрелых самок в крови, печени, сердечной мышце и яичнике присутствуют обе группы карбоксиэстераз – α- и β-фильные. Желудок, кишечник, поджелудочная железа богаты α-фильной группой ферментов и содержат следовые количества β-фильных эстераз. В щитовидной железе и головном мозге обнаруживаются лишь α-фильные карбоксиэстеразы.

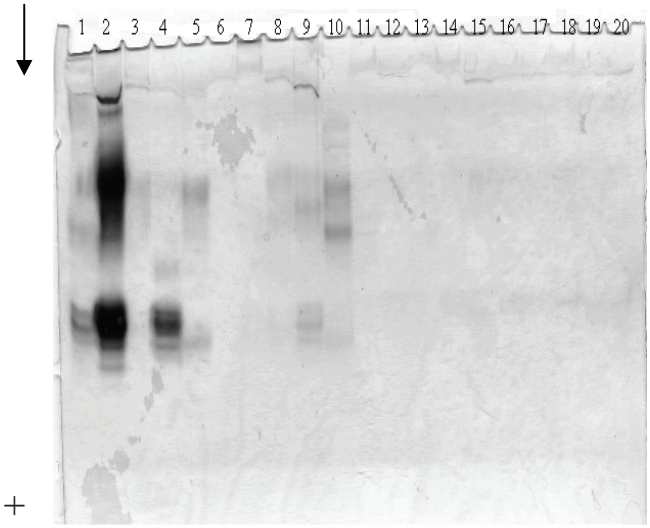

Рис. 3. Электрофоретический спектр карбоксиэстераз органов и тканей самки (2004 год) суслика крапчатого: Субстраты: α-нафтилацетат + β-нафтилацетат. Треки: 1 – кровь; 2 – печень; 3 – сердце; 4 – желудок; 5 – кишечник; 6 – щитовидная железа; 7 – головной мозг; 8 – яичник; 9 – плацента; 10 – поджелудочная железа.

Таблица 2

Характеристика молекулярных форм карбоксиэстераз у половозрелых самцов и самок суслика крапчатого по экспрессии относительно данных оптической плотности

Ткани, органы	Группы по *Rf*	Самцы (*n* = 10)		Самки (*n* = 12)	
		2004 год (*min – max*)	2005 год (*min – max*)	2004 год (*min – max*)	2005 год (*min – max*)
Кровь	1	0,216 – 0,797 (3)	–	0,545 – 0,840 (3)	–
	2	0,321 – 0,452 (3)		0,371 – 0,561 (3)	
	3	0,215 – 0,611 (4)		0,416 – 0,470 (1)	
Печень	1	0,395 – 1,860 (3)	–	0,554 – 4,010 (3)	–
	2	0,416 – 0,657 (2)	0,329 – 1,700 (3)	1,050 – 4,050 (1)	0,311 – 1,570 (5)
	3	0,427 – 2,110 (4)	0,256 – 1,900 (4)	0,436 – 1,810 (2)	0,245 – 1,890 (4)
Сердце	1	0,165 – 0,342 (3)	–	0,448 (1)	–
	2	–	0,251 – 0,352 (2)	0,382 (1)	
	3	0,234 – 0,406 (3)	0,272 – 0,758 (3)	0,232 – 0,307 (2)	
Желудок	1	0,263 – 0,819 (3)	–	0,713 – 1,810 (4)	–
	2	0,378 (1)	0,260 – 0,627 (4)	0,241 – 0,292 (2)	0,249 – 1,520 (4)
	3	0,199 – 0,315 (2)	0,218 – 0,308 (1)	0,233 – 0,420 (1)	0,233 – 0,377 (2)
Тонкий кишечник	1	0,270 – 1,910 (3)	–	0,412 – 1,900 (1)	0,552 – 0,582 (1)
	2	0,223 – 0,571 (3)	0,246 – 0,690 (2)	0,464 (1)	0,225 – 1,040 (3)
	3	0,181 – 0,207 (1)	0,198 – 0,285 (3)	0,253 – 0,410 (2)	0,222 – 0,261 (2)
Щитовидная железа	1	–	–	–	–
	2	–		–	
	3	0,205 – 0,401 (2)		0,246 – 0,338 (1)	
Головной мозг	1	–	–	–	–
	2	–		–	
	3	0,239 – 0,254 (1)		0,271 – 0,350 (1)	
Половые железы	1	0,199 – 0,359 (5)	–	0,236 (1)	–
	2	0,824 (1)		0,279 – 0,313 (2)	0,299 (1)
	3	0,322 – 1,910 (2)		0,266 – 0,341 (2)	0,246 – 0,382 (1)

продолжение таблицы 2

Ткани, органы	**Группы по *Rf***	**Самцы (*n* = 10)**		**Самки (*n* = 12)**	
		2004 год (*min – max*)	**2005 год (*min – max*)**	**2004 год (*min – max*)**	**2005 год (*min – max*)**
Придаток семенника	1	–	–	–	–
	2	0,791 – 3,720 (4)	0,212 – 0,418 (3)		
	3	–	0,247 – 0,379 (3)		
Поджелудочная железа	1	–	–	0,286 (1)	–
	2	0,265 – 0,266 (2)		0,428 – 0,543 (3)	
	3	0,216 – 0,234 (2)		0,269 – 0,335 (2)	

Примечание: оптическая плотность эстераз выражена в относительных единицах в диапазоне минимальных (min) и максимальных (max) значений; обозначения те же, что и к таблице 1.

У взрослых самок электрофоретический спектр эстераз по их подвижности представлен практически такими же фракциями, как и у самцов. Лишь только в поджелудочной железе самок, в отличие от самцов, имеющих фракции № 2 и № 3, отмечены самые подвижные фракции (№ 1) с *Rf* = 0,630.

Сходен у самок и самцов спектр фракций и в исследованных нами органах и отделах пищеварительной системы: печень (по 9 фракций), желудок (соответственно 7 и 6) и кишечник (6 и 7 фракций). В поджелудочной железе самок установлена не только большая величина коэффициента подвижности (*Rf*) отдельных фракций, но и в 1,5 раза большее их число (6 против 4). В остальных полученных нами энзимограммах органов и тканей число фракций у самок оказалось меньше, чем у самцов. В кровеносной системе число фракций, выявленных нами у самок в крови и в сердце примерно в 1,5 раза меньше, чем у самцов. Также меньшее число (примерно в 1,5 раза) электроморф эстераз у самок по сравнению с самцами установлено и в половых железах (табл. 1). На электрофореграммах щитовидной железы и головного мозга самок, также как и самцов, установлено наименьшее по сравнению с другими исследованными органами и тканями число фракций карбоксиэстераз (1 – самки и 2 – самцы).

Судя по показателям относительной оптической плотности, характер экспрессии эстеролитических ферментов в органах и тканях у самок соответствует таковому самцов. Наибольшие величины экспрессии у самок характерны для крови (до 0,840), печени (4,050), желудка (до 1,810) и кишечника (до 1,900) (рис. 3, 4; табл. 2).

При разведении экстракта (в 2 раза) экспрессия относительно оптической плотности фракций, также как и у самцов, несколько уменьшается, но соотношение их величин остаётся неизменным. Наибольшие изменения экспрессии наблюдаются у самок в печени (от 4,500 до 1,890). Судя по величине относительной оптической плотности фракций, также как и у самцов, практически неизменной остаётся экспрессия карбоксиэстераз в половых органах (яичниках), где она составляет до 0,382 единицы (рис. 4; табл. 2).

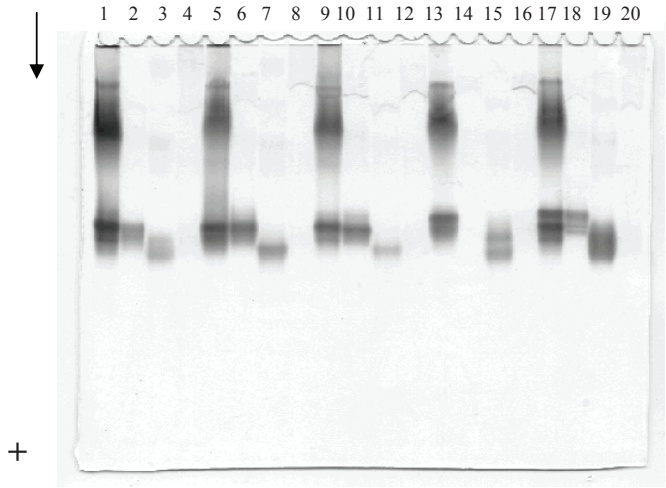

Рис. 4. Электрофоретический спектр карбоксиэстераз органов и тканей самок (2005 год) суслика крапчатого: Субстраты: α-нафтилацетат + β-нафтилацетат. Треки: 1, 5, 9, 13, 17 – печень; 2, 6, 10, 14, 18 – желудок; 3, 7, 11, 15, 19 – кишечник; 4, 8, 12, 16, 20 – яичник.

Проанализировав данные о характере распределения и экспрессии карбоксиэстераз у самцов и самок суслика, следует отметить отсутствие существенных различий по числу электрофоретически подвижных групп, их диапазонов. В то же время нами установлены различия в экспрессии эстераз половых желез (семенники, яичники).

В семенниках самцов экспрессия карбоксиэстераз имеет более высокие значения, чем в яичниках самок. У самцов в весенний период ещё сохраняется высокая двигательная активность, связанная с поиском самок и участием в процессе размножения. У самок оплодотворение происходит в первые сутки после пробуждения, после чего у них наблюдается перестройка в функционировании половых желез, что, видимо, и приводит к уменьшению активности карбоксиэстераз яичников. В период гона (активного поиска и преследования самок) самцы едят немного, сильно худеют [6], что, несомненно, отражается на активности эстераз в пищеварительной системе: величины экспрессии этих ферментов у самцов существенно уступают таковым самок.

Таким образом, результаты проведённых нами исследований указывают на то, что при изучении динамических процессов в популяциях крапчатого суслика целесообразно использовать данные экспрессивности отдельных эстеролитических ферментов пищеварительной системы, которые наиболее ярко отражают онтогенетические адаптации в постэмбриональный период развития данного вида.

Выводы

У половозрелых особей установлено наличие карбоксиэстераз во всех исследуемых органах и тканях. Наибольшим разнообразием и экспрессивностью обладают эстеразы крови, печени, желудка, кишечника и поджелудочной железы.

Карбоксиэстеразы у суслика крапчатого представлены α-фильной и β-фильной группами.

По коэффициенту относительной электрофоретической подвижности установлено 3 группы карбосиэстераз. Наибольшее разнообразие карбоксиэстераз представлено в «среднеподвижной» и «медленноподвижной» группах этих ферментов.

Список используемой литературы

1. *Андрієвський О. М.* Фізико-хімічні методи дослідження білків / О. М. Андрієвський. — Одеса: Вознесенська друкарня, 2003. — 39 с.
2. *Андриевский А. М.* Половой диморфизм по экспрессии гидролаз эфиров карбоновых кислот в популяциях *Drosophila melanogaster* / А. М. Андриевский // Вісник ОНУ. — 2006. — Т. 11. — Вип. 9. — С. 7–17.
3. *Андриевский А. М.* Система карбоксиэстераз *Drosophila melanogaster* в онтогенезе / А. М. Андриевский, В. А. Кучеров, В. Н. Тоцкий // Вісник ОНУ. — 2007. — Т. 12. — Вип. 5. — С. 7–18.
4. *Воронцов Н. Н.* Цитогенетические доказательства существования Закавказско-Сонорских дизъюнкций ареалов некоторых млекопитающих / Н. Н. Воронцов, Е. А. Ляпунова // Зоол. журн. — 1972. — Т. LI. — Вып. 11. — С. 1697–1703.
5. *Грант В.* Эволюция организмов / В. Грант. — М.: Мир, 1980. — 407 с.
6. *Лобков В. А.* Крапчатый суслик северо-западного Причерноморья: биология, функционирование популяций / В. А. Лобков. — Одесса: Астропринт, 1999. — 272 с.
7. *Межжерин С. В.* О систематическом статусе серого хомячка *Cricetulus migratorius isabellinus* из Копетдага: анализ аллозимной изменчивости / С. В. Межжерин // Вестник зоологии. — 2001. — С. 91–94.
8. *Межжерин С. В.* Генетические связи и дифференциация наземных беличьих Палеоарктики / С. В. Межжерин, О. В. Брандлер, Е. А. Ляпунова, С. Ю. Морозов-Леонов, Н. Н. Воронцов // Генетика. — 1999. — Т. 35 — № 6. — С. 756–764.
9. *Остерман Л. А.* Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие) / Л. А. Остерман. — М.: Наука, 1981. — 288 с.
10. *Яблоков А. В.* Популяционная морфология – пути развития и очередные задачи // В кн.: Проблемы развития морфологии животных / А. В. Яблоков. — М.: Наука, 1982. — С. 90–112.

Статья поступила в редакцию 1.06.2012

О. М. Андрієвський[1], Ю. М. Олійник[2], Г. С. Асманська[2]
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
[1] кафедра генетики і молекулярної біології,
[2] кафедра зоології;
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: andriev_scar@mail.ru

МОЛЕКУЛЯРНІ ФОРМИ КАРБОКСИЕСТЕРАЗ ОРГАНІВ І ТКАНИН ХОВРАХА КРАПЧАСТОГО *SPERMOPHILUS SUSLICUS* (GULD.) В ПІЗНЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ОНТОГЕНЕЗУ

Резюме
Отримано дані про розподіл карбоксиестераз в органах і тканинах ховраха крапчастого. Досліджували кров, серце, головний мозок, відділи шлунково-кишкового

тракту, статеві залози самців і самок, а також щитовидну й підшлункову залози, печінку. Встановлено локалізацію і характер прояву карбоксиестераз в окремих органах статевозрілих особин крапчастого ховраха в пізньому постнатальному розвитку.

Ключові слова: естерази, постнатальний розвиток, *Spermophilus suslicus*.

O. M. Andrievskii, Y. M. Oleinik[2], A. S. Asmanska[2]
Odesa Mechnykov National University,
[1] Department of Genetics and Molecular Biology,
[2] Department of Zoology;
2, Dvoryanskaya str., Odesa, 65082, Ukraine, e-mail: andriev_scar@mail.ru

MOLECULAR FORMS OF CARBOXYLESTERASES OF THE ORGANS AND TISSUE OF GROUND SQUIRREL *SPERMOPHILUS SUSLICUS* (GULD.) IN A LATE POSTNATAL PERIOD OF ONTOGENESIS

Summary
There were obtained the information about distributing of carboxylesterases of the organs and tissue of grtound squirrel. Blood, heart, cerebrum, different departments of gastrointestinal tract and reproductive system, and also in thyroid, pancreatic glands, liver were studied. Localization, character of display and species-specificity of carboxylesterases, is found out in the separate organs of pubertal individuals of the ground squirrel in the late postnatal development.

Key words: esterases, postnatal development, *Spermophilus suslicus*.

УДК 577.164.12.001.5:591

З. Є. Захарієва[1], к.б.н., доцент,
О. К. Будняк[1], к.б.н., доцент,
Н. Л. Федорко[1], к.б.н., доцент,
С. С. Чернадчук[1], к.б.н., доцент,
О. Л. Будняк[1], аспірант,
О. І. Данилова[2], к.х.н., старший науковий співробітник
О. В. Запорожченко[1], к.б.н., доцент
[1]Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, Україна, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна
[2]Одеська національна академія харчових технологій, вул. Канатна, 112, Одеса, 65039, Україна, e-mail: budnyak2005@ukr.net

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ У ЩУРІВ В УМОВАХ ЇХ УТРИМУВАННЯ НА РАЦІОНІ З ДОДАННЯМ КОРМОВИХ ДОБАВОК З РІПАКУ

Вивчали вплив місячного годування щурів кормом з доданням ріпакових макухи, шрота та олії на показники активності піруват- та 2-оксоглутаратдегідрогеназних комплексів, сукцинатдегідрогенази, вмісту метаболітів аскорбінової кислоти та малонового діальдегіду в їх органах.
Отримано дані, що кормові добавки з ріпаку викликали різнобічні зміни у активності дегідрогеназ оксокислот та сукцінатдегідрогенази в органах щурів. Додання до їжі ріпакової макухи зменшувало вміст дегідроаскорбінової кислоти, а ріпакової олії викликало підвищення вмісту малонового діальдегіду в печінці дослідних щурів.

Ключові слова: ріпакова макуха, ріпаковий шрот, аскорбінова кислота, метаболіти, піруват- та 2-оксоглутаратдегідрогеназні комплекси, сукцинатдегідрогеназа, малоновий діальдегід

Ріпак є одним з найважливіших джерел рослинної олії у світовому сільському господарстві. Іншим напрямком використання ріпаку є отримання харчових та кормових продуктів із ріпакових шротів та макухи. Аналіз хімічного складу зразків ріпаку свідчить про наявність в них значної кількості білків, амінокислот, вітамінів та вітаміноподібних сполук, зокрема, холіну, ніацину, рибофлавіну, фолієвої кислоти та тіаміну; біодоступних металів, таких як кальцій, фосфор, магній, мідь, марганець та ін. Є також певна кількість антиокислювачів, зокрема вітаміну Е, фенольних сполук тощо [3].

Ріпакові продукти як більш дешеві достатньо використовуються у сільському господарстві як додатки до кормів при годуванні сільськогосподарських тварин. Базуючись на біохімічному складі ріпакової макухи та шроту їх доцільно використовувати у харчовій промисловості, можливо як харчові добавки [4, 5]. Однак їх вплив на біохімічні показники тварин та людини вивчений недостатньо.

Метою роботи було вивчення дії кормових добавок з ріпаку на активність піруват- та 2-оксоглутаратдегідрогеназних комплексів, сукцинатдегідрогенази, вміст метаболітів аскорбінової кислоти та малонового діальдегіду в органах білих щурів.

© З. Є. Захарієва, О. К. Будняк, Н. Л. Федорко, С. С. Чернадчук, О. Л. Будняк, О. І. Данилова, О. В. Запорожченко, 2012

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводили на базі лабораторії біохімії ОНУ імені І. І. Мечникова. Білих нелінійних щурів-самців масою 160–200 г розділили на групи. Перша група – щури, які утримувалися на стандартному раціоні віварію. Щурам 2–4 груп у корм додавали відповідно ріпакову макуху або ріпаковий знежирений шрот із розрахунку 1,6 г на 100 г ваги щурів, або ріпакову олію із розрахунку 1 мл на 100 г ваги щурів щодобово протягом одного місяця [4]. В роботі використовувався двунульовий сорт ріпаку «Галицький», тобто сорт ріпаку, насіння якого у відповідності до вимог ЄС містило менше 2 % ерукової кислоти, а шрот – менше 30 мкмоль/г глюкозинолатів [2].

В органах щурів визначали активність піруват- та 2-оксоглутаратдегідрогеназних комплексів, активність сукцинатдегідрогенази (далі, відповідно ПДК, ОГДК та СДГ) за Габлером в модифікації Кисслінга та Лундквіста, в мкмоль відновленого ферицианіду/г тканини за 1 хв. [8], вміст метаболітів аскорбінової кислоти (загальна аскорбінова кислота – ЗАК, саме аскорбінова кислота – АК, дегідроаскорбінова кислота – ДАК) за Соколовським, Лебедєвою, Ліелуп [6], в мкг/г тканини, вміст малонового диальдегіду за Стальна та Гаришвілі, в нмоль/г тканини [7]. Усі маніпуляції з тваринами проводились згідно Європейської конвенції про захист тварин, які використовуються для експериментально-наукових досліджень. Дані опрацьовані статистично [1].

Результати досліджень та їх обговорення

Дослідження почали з вивчення впливу кормових добавок з ріпаку на ключові ферменти енергетичного обміну, а саме на активність ПДК, ОГДК та СДГ.

Згідно отриманих даних (рис. 1–4), у порівнянні з контролем, годування щурів ріпаковою макухою призводило до зменшення активності ПДК в печінці та серці в 1,84 та 1,94 рази відповідно, а активність ОГДК зменшилася в усіх органах, крім печінки в 1,56–1,95 разів. Активність СДГ зменшилася у серці і дванадцятипалій кишці, проте збільшилася на 36 % у нирках.

Годування ріпаковим шротом призводило до зменшення активності ПДК в печінці і дванадцятипалій кишці на 37 % та 50 % відповідно, проте підвищувало активність ОГДК у нирках та серці на 54 % та 33 % відповідно, у порівнянні з контролем. Активність СДГ підвищувалась у всіх органах у порівнянні з контролем. Годування щурів їжею з доданням ріпакової олії викликало ефекти, подібні до дії шроту.

Таким чином додання до корму щурів різних ріпакових продуктів викликало різнобічні коливання активності дегідрогеназ, що може бути пояснено надходженням субстратів, коферментів та інгібіторів дегідрогеназ у нехарактерних для звичайного корму співвідношеннях.

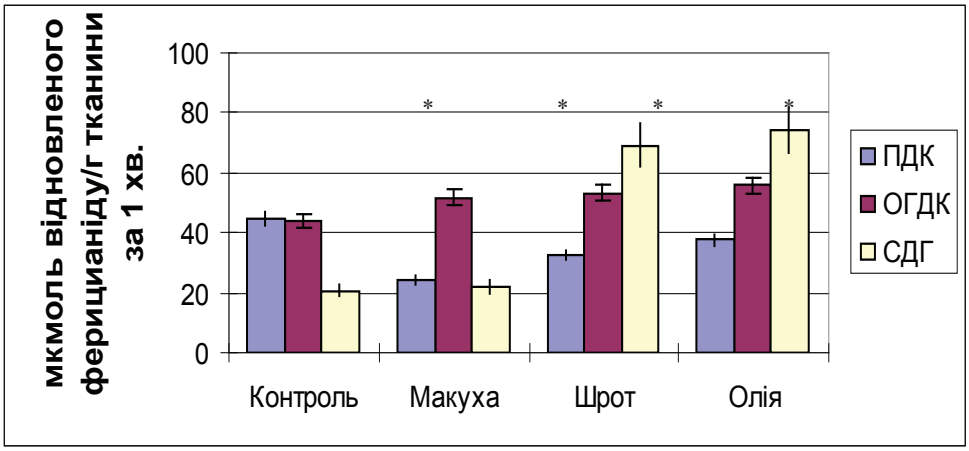

Рис. 1. Активність піруватдегідрогеназного комплексу (ПДК), 2-оксоглутаратдегідрогеназного комплексу (ОГДК) та сукцинатдегідрогенази (СДГ) в печінці щурів в умовах годування ріпаковими макухою, шротом та олією, в мкмоль відновленого ферицианіду/г тканини за 1 хв (n=5).

Примітка: * - різниця з контролем достовірна, $p \leq 0,05$.

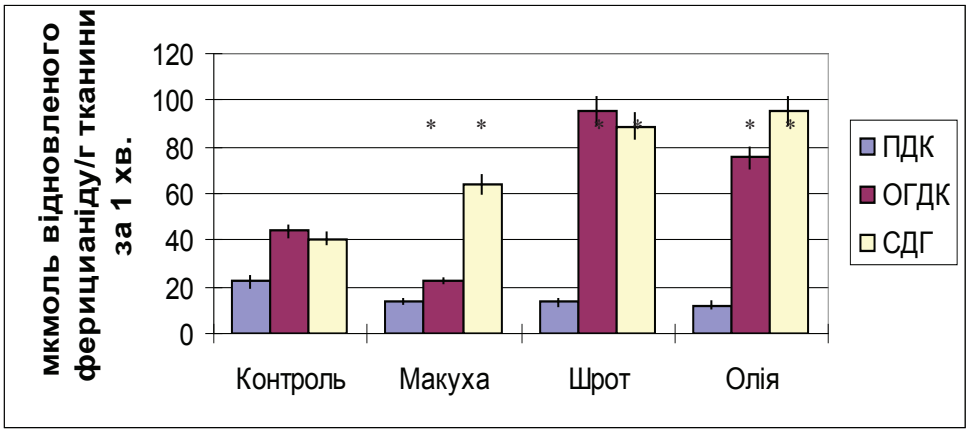

Рис. 2. Активність піруватдегідрогеназного комплексу (ПДК), 2-оксоглутаратдегідрогеназного комплексу (ОГДК) та сукцинатдегідрогенази (СДГ) в нирках щурів в умовах годування ріпаковими макухою, шротом та олією, в мкмоль відновленого ферицианіду/г тканини за 1 хв (n=5).

Примітка: * - різниця з контролем достовірна, $p \leq 0,05$.

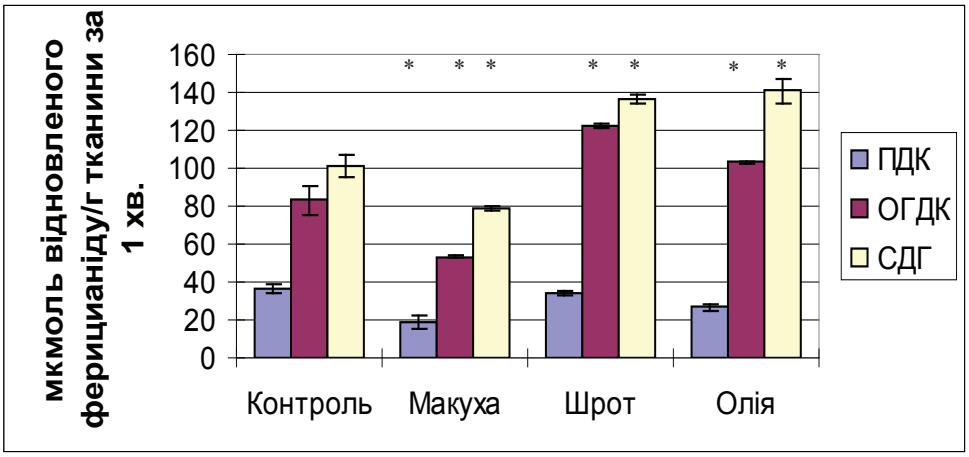

Рис. 3. Активність піруватдегідрогеназного комплексу (ПДК), 2-оксоглутаратдегідрогеназного комплексу (ОГДК) та сукцинатдегідрогенази (СДГ) в серці щурів в умовах годування ріпаковими макухою, шротом та олією, в мкмоль відновленого ферицианіду/г тканини за 1 хв (n=5).

Примітка: * - різниця з контролем достовірна, $p \leq 0,05$.

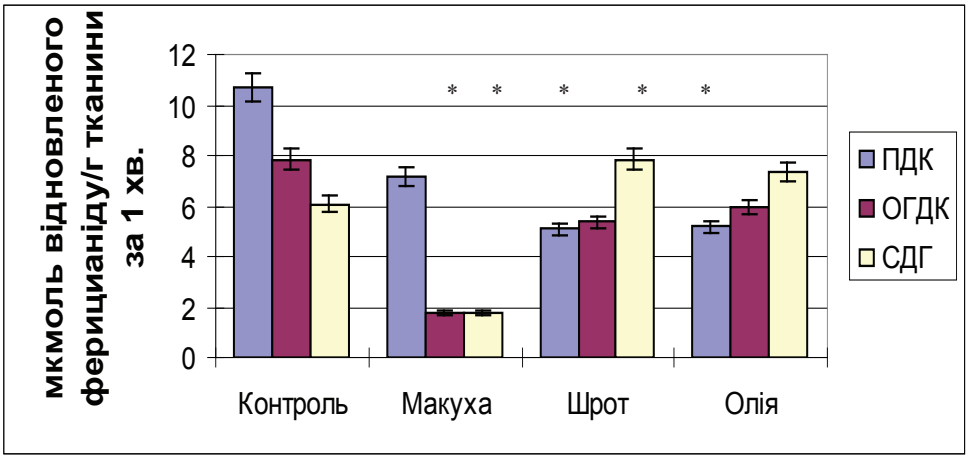

Рис. 4. Активність піруватдегідрогеназного комплексу (ПДК), 2-оксоглутаратдегідрогеназного комплексу (ОГДК) та сукцинатдегідрогенази (СДГ) в дванадцятипалій кишці щурів в умовах годування ріпаковими макухою, шротом та олією, в мкмоль відновленого ферицианіду/г тканини за 1 хв (n=5).

Примітка: * - різниця з контролем достовірна, $p \leq 0,05$.

Вміст малонового діальдегіду (МДА) в печінці щурів в умовах споживання продуктів з ріпаку наведено на рис. 5.

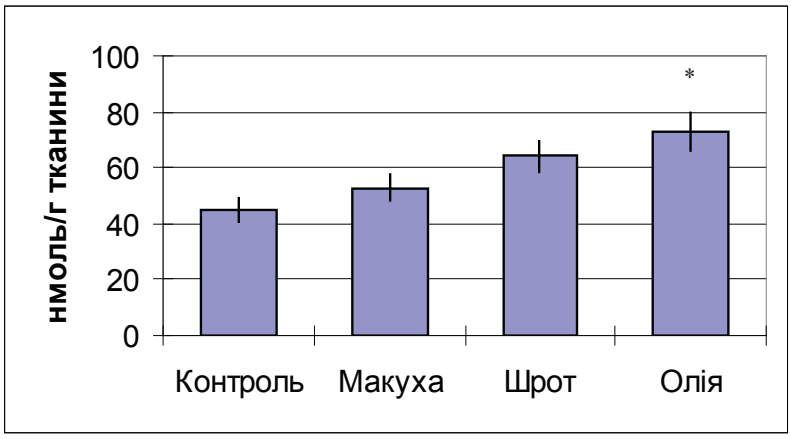

Рис. 5. Вміст малонового діальдегіду в печінці щурів в умовах годування ріпаковими макухою, шротом та олією, в нмоль/г тканини (n=5).

Примітка: * - різниця з контролем достовірна, $p \leq 0,05$.

Встановлено, що тільки додавання ріпакової олії в раціон щурів достовірно, майже на 40 %, підвищувало вміст МДА в печінці, що може бути пояснено надлишком ненасичених жирних кислот, які є субстратами перекисного окиснення. Вплив інших ріпакових продуктів був менш значним і не призводив до достовірних відмінностей з контролем. В інших органах були отримані подібні результати.

Інтенсивність метаболізму вітаміну С можна простежити, вивчаючи співвідношення вмісту вітаміну С та його метаболітів, а саме власне АК та ДАК (рис. 6).

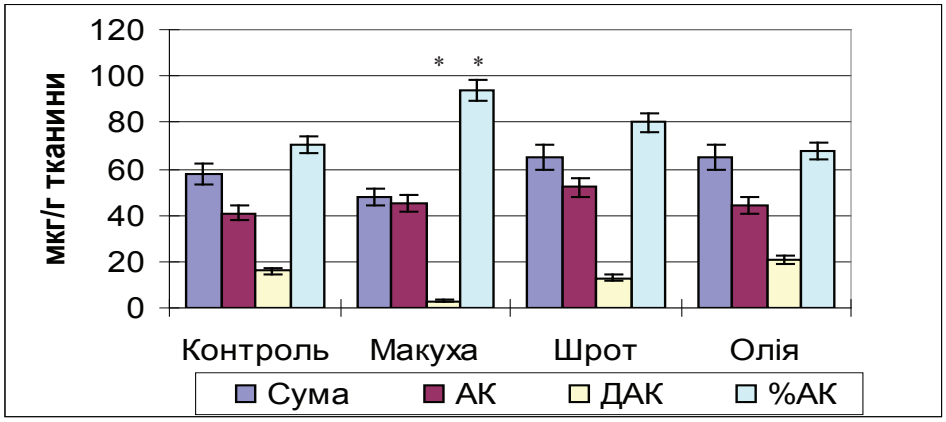

Рис. 6. Вміст аскорбінової (АК), дегідроаскорбінової (ДАК) кислот, їх суми (мкг/г тканини) та процентна частка АК від суми (%АК) в печінці щурів в умовах годування ріпаковими макухою, шротом та олією (n=5).

Примітка: * - різниця з контролем достовірна, $p \leq 0,05$.

Коливання сумарної кількості АК в умовах досліду було незначним (рис. 6), але годування ріпаковою макухою значно зменшувало вміст ДАК, майже у 5 разів порівняно з контролем і відповідно на 23 % підвищувався відсоток АК від суми кислот.

Таким чином, годування щурів ріпаковими макухою, шротом та олією викликало різнобічні коливання активності дегідрогеназ в різних органах. Стабільність вмісту МДА в печінці при годуванні ріпаковою макухою тварин свідчить про відсутність пошкодження мембран, а пригнічення активності ПДК на тлі підвищеного використання ДАК, можливо, свідчить про зміну напрямку біохімічних процесів у цьому органі з суто енергетичного – у бік біотрансформації продуктів метаболізму корма, в якому є в наявності різноманітні біологічно активні сполуки. Активація перекисного окиснення ліпідів у випадку використання олії може пояснюватися надлишком ненасичених жирних кислот, які є у її складі. Зменшення вмісту ДАК у печінці на тлі годування макухою може бути пояснено впливом компонентів макухи на процеси синтезу аскорбінової кислоти в печінці щурів, або на підвищене використання ДАК в умовах дослідів.

Взагалі, якщо розглядати ефект дії ріпакових продуктів на показники, що вивчались, ріпакова макуха більш істотно модифікувала біохімічні показники, ніж шрот та олія, особливо у напрямку пригнічення активності дегідрогеназ.

Висновки

1. Місячне годування щурів кормом з додаванням ріпакових макухи, шрота та олії викликало різноспрямовані зміни у активності дегідрогеназ оксокислот (ПДК, ОГДК) та СДГ, що може бути пов'язано із наявністю у ріпаку специфічних речовин.

2. Додавання до їжі ріпакової макухи у 5 разів зменшувало вміст ДАК, а ріпакової олії викликало підвищення вмісту МДА на 40 % в печінці дослідних щурів у порівнянні з контролем.

3. Вживання з їжею ріпакової макухи більш істотно пригнічувало активність дегідрогеназ циклу трикарбонових кислот, ніж шрот та олія, що потребує подальших досліджень.

Список використаної літератури

1. *Гланц С.* Медико-биологическая статистика. / С. Гланц; [Пер. с англ.] — М.: Практика, 1998. — 459 с.
2. *Данилова О. І.* Порівняльна характеристика показників якості насіння озимого і ярового ріпака / О. І. Данилова, В. Є. Гаро, Ю. М. Карпюк // Наук. пр. / ОНАХТ — Одеса. — 2012. — Вип. 38, Т. 1. — С. 74–78.
3. *Низова Г. К.* Биохимическое изучение ярового и озимого рапса из коллекции ВИР им Н.И. Вавилова / Г. К. Низова, А. Г. Дубовская // Аграрная Россия. — № 6. — 2006. — С. 37–40.
4. *Пищевые волокна* / [М. С. Дудкин, Н. К. Черно, И. С. Казанская и др.] – К.: Урожай, 1988. — 152 с.
5. *Смоляр В. И.* Рациональное питание / В. И. Смоляр — К.: Наукова думка, 1991. — 368 с.
6. *Соколовский В. В.* О методе раздельного определения аскорбиновой, дегидроаскорбиновой и дикетогулоновой кислот в биологических тканях / В. В. Соколовский, Л. В. Лебедева, Т. В. Лиэлуп // Лабораторное дело, 1974. — № 3. — С. 160–162.

7. *Стальная И. Д.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. / И. Д. Стальная, Т. Д. Горишвили // Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1997. — С. 66–68.
8. *Gubler C.* Studies of Physiological function of thiamine / C. Gubler // J. Biol. Chem. — 1961. — V. 12. — P. 3112–3120.

Стаття надійшла до редакції 20.09.2012

З. Е. Захариева[1], А. К. Будняк[1], Н. Л. Федорко[1], С. С. Чернадчук[1], Е. Л. Будняк[1], Е. И. Данилова[2], А. В. Запорожченко[1]
[1]Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова, кафедра биохимии, ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина
[2] Одесская национальная академия пищевых технологий, ул. Канатная, 112, Одесса, 65039, Украина

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У КРЫС В УСЛОВИЯХ ИХ СОДЕРЖАНИЯ НА РАЦИОНЕ С ДОБАВЛЕНИЕМ КОРМОВЫХ ДОБАВОК ИЗ РАПСА

Резюме
Изучали влияние месячного кормления крыс с добавлением в корм рапсовых жмыха, шрота и масла на показатели активности пируват- и 2-оксоглутаратдегидрогеназных комплексов, активности СДГ, содержания метаболитов аскорбиновой кислоты и малонового диальдегида в их органах.
Получено, что кормовые добавки из рапса вызывали разносторонние изменения в активности дегидрогеназ оксокислот (ПДК, ОГДК) и СДГ в органах крыс. Добавление к корму рапсового жмыха уменьшало содержание ДАК, а рапсового масла вызывало повышение содержания МДА в печени опытных крыс.

Ключевые слова: рапсовый жмых, рапсовый шрот, аскорбиновая кислота, метаболиты, пируват- и 2-оксоглутаратдегидрогеназный комплекс, сукцинатдегидрогеназа, малоновий диальдегид.

Z. E. Zaharieva[1], O. K. Budnyak[1], N. L. Fedorko[1], S. S. Chernadchuk[1], O. L. Budnyak[1], O. I. Danilova[2], O. V. Zaporozhchenko[1]
[1]Odesa National Mechnykov I. I. University, Department of Biochemistry, 2, Dvoryanska Str., Odesa, 65082, Ukraine
[2]The Odesa national academy of food technologies, 112, Kanatna Str, Odesa, 65039, Ukraine

BIOCHEMICAL INDICES FOR RATS IN THE CONDITIONS OF THEIR MAINTENANCE ON THEBRATION WITH ADDITION OF RAPE FORAGE ADDITIONS

Summary
The effect of the monthly feeding of rats with adding to the feed of rape grist, fat-free grist and oil on the indices of activity of pyruvate- and 2-oksoglutaratedehydrogenaze

complexes, activity of SDG, the concentrations of metabolytes of ascorbic acid and malonic dialdehyde in their organs were studied.
The scalene changes in activity of dehydrogenases of oksoasids (PDG, OGDK) and SDG in the organs of rats were caused by the rape forage additions. There were founded that rape grist adding to the feed decreased the concentration of DAA, and rape oil caused the increase of amount of MDA in the liver of the experienced rats.

Key words: rape grist, rape fat-free grist, ascorbic acid, metabolytes, pyruvate- and 2-oksoglutaratedehydrogenaze complexes, activity of SDG, malonic dialdehyde.

УДК 577.118:614.449:678.048

Р. Я. Іскра, к.с.-г.н, докторант
Інститут біології тварин НААН, лабораторія біохімії адаптації та онтогенезу тварин, вул. В. Стуса, 38, Львів, 79034, Україна, e-mail: iskra_r@ukr.net

ВПЛИВ ЦИТРАТУ ХРОМУ НА СТАН СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В КРОВІ ТА ТКАНИНАХ ВАГІТНИХ ЩУРІВ

Досліджували вплив цитрату хрому в дозі 10 мкг Cr^{3+}/кг маси тіла на вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ензимів у крові та тканинах вагітних самок лабораторних щурів. Встановлено, що за дії цитрату хрому підвищувалася активність супероксиддисмутази в крові (в 1,3 раза), м'язах (в 3,0 раза), мозку (в 3,2 раза), селезінці (в 3,5 раза), серці (в 6,3 раза) та каталази — в м'язах (в 1,2 раза), нирках (в 1,4 раза), селезінці (в 1,5 раза) самок у період вагітності.

Ключові слова: щур, цитрат хрому, вагітність, антиоксидантна система.

Дослідження на людях і тваринах показали, що активні форми кисню (АФК) беруть участь у модуляції спектру фізіологічних репродуктивних процесів – від дозрівання яйцеклітини до її запліднення, розвитку ембріона і вагітності [9]. У той же час, АФК можуть бути пов'язані з гінекологічними захворюваннями, впливати на загальні механізми їх етіопатогенезу [8].

У стані вагітності в організмі тварин проходить низка адаптаційно-пристосувальних процесів, які направлені на забезпечення адекватного її протікання, а також росту і розвитку плоду. Під час вагітності у зв'язку з підвищенням основного обміну і збільшенням споживання кисню в крові відбуваються значні біохімічні зміни: підвищується концентрація загальних ліпідів, у т.ч. нейтрального жиру та холестеролу [2]. Також збільшується активність фосфоліпази A_2. У результаті її дії в крові підвищується концентрація ненасичених жирних кислот, які є безпосереднім субстратом для перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Крім цього, АФК можуть також надходити в організм матері від ембріона, утворюватися в результаті обміну речовин в його організмі. Встановлено, що у жінок в останній період вагітності та напередодні пологів проходить інтенсифікація процесів ПОЛ, у відповідь на яку активується антиоксидантна система (АОС) [4]. При вагітності стан ПОЛ та АОС встановлюються на новому, більш високому рівні, який відображає компенсований процес адаптації організму жінки [3].

У дослідженнях деяких авторів було встановлено, що статевий гормон – 17 β-естрадіол інгібує секрецію інтерлейкіну-6 і адгезію лейкоцитів до ендотеліальних клітин в культуральному середовищі моноцитів, інкубованих з H_2O_2, або глюкозою у високій концентрації. Однак, комплексне застосування 17 β-естрадіолу і хрому (Cr) надає можливість при значно нижчих дозах гормону гальмувати синтез інтерлейкіну-6 та інгібувати ПОЛ [15]. Це особливо важливо, якщо врахувати, що є певний ризик застосування високих доз естрадіолу, а використання більш низьких доз гормону в комбінації з хромом є необхідним для досліджень жінок-діабетиків в період постменопаузи [15].

© Р. Я. Іскра, 2012

Встановлено, що Cr проявляє подвійні властивості як антиоксиданта, так і прооксиданта, що може пояснюватися його участю в окисно-відновних процесах. Реакції сполук Cr з перекисами ліпідів, ймовірно, відповідальні за здатність цих сполук знижувати рівень ПОЛ [11]. Застосування мікроелемента у вигляді карбоксилату лимонної кислоти, яка синтезується в організмі людини і тварин та бере участь в циклі Кребса, значно підвищує біодоступність хрому та є перспективним напрямом досліджень.

Мета досліджень – дослідити вплив цитрату хрому на активність ензимів АОС в крові та тканинах самок щурів під час вагітності.

Матеріали та методи

Дослідження проведені на самках білих лабораторних щурів лінії Вістар, масою 180–200 г, які перебували у віварії за відповідних умов освітлення, температурного режиму та стандартного раціону. Утримання тварин та всі експерименти виконані з дотриманням положень «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики. Тварини були поділені на дві групи – контрольну і дослідну, по 6 тварин у кожній. Від початку спаровування самкам щурів дослідної групи, на відміну від контрольної, до питної води протягом 20 діб додавали розчин цитрату хрому в дозі 100 мкг Cr/л води (10 мкг Cr/кг маси тіла). Через 20 діб після спаровування тварин виводили з експерименту після проведеної евтаназії шляхом декапітації під ефірним наркозом.

Матеріалом для дослідження служили проби крові та тканин самок щурів, відібраних при забої. У плазмі крові та гомогенатах тканин досліджували вміст гідропероксидів ліпідів за методом В. В. Мирончика, принцип якого полягає в осадженні протеїну трихлороцтовою кислотою з наступним внесенням у середовище тіоціанату амонію [1]. Вміст гідропероксидів ліпідів визначали за різницею екстинкцій між дослідним зразком і контрольним, в який замість гомогенату тканини додавали відповідну кількість бідистильованої води, а виражали в умовних одиницях на 1 г протеїну (або $\Delta Д^{480}$/г).

Концентрацію ТБК-активних продуктів визначали за методом Є. Н. Коробейникова, який полягає у проведенні кольорової реакції малонового діальдегіду з тіобарбітуровою кислотою [6]. Концентрацію ТБК-активних продуктів у зразку виражали в нмоль МДА на грам протеїну тканини. Активність супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.1.15.1.) визначали за методом Є. Є. Дубініної, принцип якого полягає у відновленні нітротетразолію супероксидними радикалами [5]. Розрахунок активності СОД визначали за відсотком інгібування відновлення нітросинього тетразолію у дослідній пробі за 1 хв., а виражали в умовних одиницях, із розрахунку на 1 мг протеїну. Активність каталази (КФ 1.11.1.6) визначали за методом М. А. Королюк, принцип якого полягає у здатності пероксиду водню утворювати із солями молібдену стійкий кольоровий комплекс [7]. Активність ензиму виражали в нмоль H_2O_2/хв х мг протеїну тканини.

Одержані цифрові дані опрацьовували статистично за допомогою програми Microsoft EXCEL. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Цитрат хрому, який випоювали самкам щурів суттєво не впливає на перебіг процесів перекисного окиснення ліпідів у їх крові, оскільки не виявлено вірогідних відмінностей вмісту гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів в крові тварин дослідної групи порівняно з контрольною (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів та активність ензимів антиоксидантного захисту в крові самок щурів (M±m, n=6)

Показники крові	Контрольна група	Дослідна група
ГПЛ, ум. од/г протеїну	0,42±0,04	0,37±0,05
ТБК-активні продукти, нмоль МДА / г протеїну	5,28±0,41	3,97±0,75
СОД, ум. од./ 1 мг протеїну	14,5±1,67	19,1±0,96*
Каталаза, мкмоль H_2O_2/хв на 1 мг протеїну	2,85±0,14	2,96±0,44

Примітка: вірогідність різниць показників порівняно до контролю: * - $p < 0,05$

У тканинах самок дослідної групи, як і в крові, вміст гідропероксидів ліпідів вірогідно не змінюється (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів та активність ензимів антиоксидантного захисту в тканинах самок щурів (M±m, n=6)

Тканина	Група	Гідропероксиди ліпідів,ум. од/г протеїну	ТБК-активні продукти, нмоль МДА/г протеїну	СОД, ум. од./ 1 мг протеїну	Каталаза, мкмоль H_2O_2/хв на 1 мг протеїну
Печінка	К	0,36±0,05	7,18±0,61	23, 7±3,99	4,06±0,32
	Д	0,29±0,03	6,32±0,13	22,3±3,14	4,51±0,33
Нирки	К	0,40±0,09	7,00±0,39	21,1±3,27	4,36±0,13
	Д	0,33±0,08	6,39±0,64	30,0±4,65	6,03±0,35**
Мозок	К	0,23±0,05	6,91±0,74	7,0±0,20	10,61±1,36
	Д	0,18±0,04	6,02±0,43	22,5±2,49***	11,37±3,26
Селезінка	К	0,76±0,15	7,61±0,99	6,6±0,10	3,92±0,37
	Д	0,62±0,06	5,44±0,09	23,4±3,17***	6,04±0,85*
Легені	К	0,57±0,05	3,07±0,17	14,7±1,73	8,00±1,33
	Д	0,63±0,01	3,29±0,1	17,7±0,62	6,78±0,84
Серце	К	0,54±0,08	3,63±0,50	5,0±0,22	4,60±0,44
	Д	0,80±0,18	5,95±0,47**	31,3±1,62***	5,81±1,40
М’язи	К	0,22±0,04	2,89±0,06	7,7±0,97	6,71±0,07
	Д	0,14±0,03	3,52±0,14**	23,3±0,98***	8,15±0,55*

Примітка: вірогідність різниць показників порівняно до контролю: * - $p < 0,05$;** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$. К- контроль, Д – дослідна група.

Вміст ТБК-активних продуктів вірогідно зростає в серці (в 1, 6 раза, $p < 0,01$) та м'язах (в 1, 2 раза, $p < 0,01$) щурів дослідної групи порівняно до їх вмісту в тварин контрольної групи, проте в інших тканинах – вірогідних змін не спостерігається (табл. 2).

Отримані результати свідчать про те, що в самок щурів у стані вагітності хром не виявляє суттєвого впливу на процеси ПОЛ як у крові, так і в тканинах, крім серцевого та скелетного м'язів, де вони посилюються. Проте, в літературі є дані, які свідчать про зниження процесів ПОЛ у гепатоцитах щурів за дії хрому [13].

Цитрат хрому в період вагітності проявляє власні антиоксидантні властивості та стимулює до активації систему антиоксидантного захисту організму, яка запобігає розвитку вільнорадикальних реакцій, накопиченню супероксид-аніонів та пероксидів. У результаті проведених досліджень встановлено, що за дії цитрату хрому в крові та тканинах самок щурів підвищується активність основного ензиму антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази. Активність ензиму, який знешкоджує супероксидний радикал, напряму пов'язана з інтенсивністю ПОЛ і залежить від кількості накопичених у тканині інтермедіатів. Так, активність СОД вірогідно зростає у тварин дослідної групи в крові (в 1,3 раза, $p < 0,05$), мозку (в 3,2 раза, $p < 0,001$), селезінці (в 3,5 раза, $p < 0,001$), серці (в 6,3 раза, $p < 0,001$) та м'язах (в 3,0 раза, $p < 0,001$). Одержані нами результати узгоджуються з даними літератури щодо регуляції активності СОД багатокомпонентною редокс-системою клітини, а також ролі інтермедіатів окисно-відновного метаболізму як тригерного механізму, який індукує синтез ензиму при збільшенні концентрації донорів електронів [10]. Є повідомлення, що добавки хрому можуть збільшувати вміст міді та цинку в крові, за рахунок покращення їх засвоєння, які, в свою чергу, стимулюють у печінці синтез Cu/Zn-залежної супероксиддисмутази [14].

Активність каталази, ензиму, який розщеплює H_2O_2, що утворюється в результаті дисмутації супероксидного радикалу, за дії цитрату хрому зростає у нирках (в 1,4 раза, $p < 0,01$), селезінці (в 1,5 раза, $p < 0,05$) та м'язах (в 1,2 раза, $p < 0,05$). У крові активність ензиму вірогідно не змінюється (табл. 1). Отримані результати підтверджують дослідження інших авторів, які виявили, що хром підвищував активність каталази у селезінці щурів з гіперліпідемією [16].

Крім цього, слід відмітити, що зростання активності СОД у скелетних і серцевих м'язах та каталази – лише у скелетних м'язах, за дії цитрату хрому відбувається на тлі підвищеного вмісту ТБК-активних продуктів. Очевидно, хром в дозі 10 мкг Cr/кг у цих тканинах проявляє функцію прооксиданта, що у подальшому веде до активації ензимів АОС. Зростання активності СОД пов'язано з підвищенням біосинтезу кисневих радикалів різними оксидазами – NADPH-оксидазою, ксантиноксидазою, циклооксигеназою, ендотеліальною NO-синтазою [17]. Збільшення продукту супероксиддисмутазної реакції H_2O_2 зумовлює підвищення активності каталази. Отримані результати досліджень узгоджуються з даними літератури щодо впливу Cr на підвищення активності ензимів антиоксидантної системи [12].

Висновки

У результаті проведених досліджень встановлено, що за дії цитрату хрому, в дозі 10 мкг Cr/кг маси тіла, у самок щурів в період вагітності вміст продуктів ПОЛ у крові та тканинах не змінювався, за винятком серцевого та скелетного м'язів, де зростав вміст ТБК–активних продуктів.

За дії цитрату хрому в самок щурів підвищувалася активність супероксиддисмутази в крові (в 1,3 раза), м'язах (в 3,0 раза), мозку (в 3,2 раза), селезінці (в 3,5 раза), серці (в 6,3 раза) та каталази – в м'язах (в 1,2 раза), нирках (в 1,4 раза), селезінці (в 1,5 раза).

Список використаної літератури

1. *А. с.* № 1084681 СССР, МКИ G № 33/48. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях / В. В. Мирончик (СССР). — № 3468369/2813; — заявл. 08.07.82; опубл. 07.04.84, Бюл. № 13.
2. *Афанасьєва Н. В.* Результати вагітності та пологів при фетоплацентарної недостатності різного ступеня тяжкості / Н. В. Афанасьєва, А. Н. Стрижаков // Питання гінекології, акушерства та перинатології. — 2007. — Т. 3, № 2. — С. 713.
3. *Біохімічні* зміни в фетоплацентарної системі мати-плацента-плід у процесі підготовки організму жінки до пологів при ускладненої вагітності / М. М. Крайнова, Т. Є. Азарнова, В. І. Розіна [та ін.] // Вісн. зростав. ассоц. акуш. і гінекол. — 1998. — Т. 3. — С. 25–7.
4. *Годованець Ю. Д.* Плацентрана недостатність: досвід лікування, особливості адаптації новонароджених дітей / Ю. Д. Годованець, С. Є. Косілова // Клінічна та експериментальна патологія. — 2006. — Т. 5, № 4. — С. 21–25.
5. *Дубинина Е. Е.* Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека / Е. Е. Дубинина, Л. Я. Сальникова, Л. Ф. Ефимова // Лаб. дело. — 1983. — № 10. — С. 30–33.
6. *Коробейникова Є. Н.* Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК / Є. Н. Коробейникова // Лаб. дело. — 1989. — № 7. — С. 8–9.
7. *Метод* определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16–18.
8. *Agarwal A.* Role of free radicals in female reproductive diseases and assisted reproduction / A. Agarwal, S. S. Allamaneni // Reprod Biomed Online. — 2004. — Vol. 9. — P. 338–347.
9. *Agarwal A.* Role of oxidative stress in female reproduction / A. Agarwal, S. Gupta, R. K. Sharma // Reproductive Biology and Endocrinology. — 2005. — Vol. 3. — P. 1–28.
10. *Alscher R. G.* Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants / R. G. Alscher, N. Erturk, L. S. Heath // J. Exp. Bot. — 2002. — Vol. 53. — P. 1331–1341.
11. *Antioxidant* effects of chromium supplementation with type 2 diabetes mellitus and euglycemic subjects / H. H. Cheng, M. H. Lai, W. C. Hou [et al] // J. Agric. Food Chem. — 2004. — Vol. 52. — P. 1385–1389.
12. *Chromium* attenuates hepatic damage in a rat model of chronic cholestasis / W. Yi. Chen, C. Ju. Chen, J. W. Liao [et al] // Life Sciences. — 2009. — Vol. 84. — P. 606–614.
13. *Effects* of chromium in lipid peroxydation in isolated hepatocytes / S. Ueno, N. Susa, Y. Furukawa [et al] // Jpn. J. Sci. — 1998. —Vol. 50. — P. 45–52.
14. *Effects* of chromium supplementation on growth rate and metabolism in fattening bulls / A. Pechova, J. Illek, M. Sindelar [et al] // Acta Veterinaria Brno. — 2002. —Vol. 71. — P. 535–541.
15. *Jain S. K.* Protective effects of 17-estradiol and trivalent chromium on interleukin-6 secretion, oxidative stress, and adhesion of monocytes: relevance to heart disease in postmenopausal women / S. K. Jain, K. Rogier, L. Prouty // Free Rad. Biol. Med. — 2004. — Vol. 37, № 11. — P. 1730–1735.
16. *The effect* of combined treatment with niacin and chromium (III) chloride on the different tissues of hyperlipemic rats / I. A. Atac, A. Peksela, R. Yanardag [et al] // Drug and chemical toxicology. — 2006. — Vol. 29, № 40. — P. 363–377.
17. *The sources* and the targets of oxidative stress in the etiology of diabetic complications / M. Mohora, M. Greabu, C. Muscurel [et al] // Romanian J. Biophys. — 2007. — Vol. 17, № 2. — P. 63–84.

Стаття надійшла до редакції 9.05.2012

Р. Я. Искра
Институт биологии животных НААН, лаборатория биохимии адаптации и онтогенеза животных,
ул. В. Стуса, 38, Львов, 79034, Украина

ВЛИЯНИЕ ЦИТРАТА ХРОМА НА СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В КРОВИ И ТКАНЯХ БЕРЕМЕННЫХ КРЫС

Резюме
Исследовали влияние цитрата хрома в дозе 10 мкг Cr^{3+}/кг массы тела на содержание продуктов перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных ферментов в крови и тканях беременных самок лабораторных крыс. Установлено, что при действии цитрата хрома повышалась активность супероксиддисмутазы в крови (в 1,3 раза), мышцах (в 3,0 раза), мозге (в 3,2 раза), селезенке (в 3,5 раза), сердце (в 6,3 раза) и каталазы – в мышцах (в 1,2 раза), почках (в 1,4 раза), селезенке (в 1,5 раза) и самок в период беременности.

Ключевые слова: крыса, цитрат хрома, беременность, антиоксидантная система.

R. Ya. Iskra
Institute of Animal Biology NAAN, laboratory of adaptation biochemistry and animals ontogeny,
38, Vasyl Stus str., Lviv, 79034, Ukraine

INFLUENCE OF CHROMIUM CITRATE ON ANTIOXIDANT SYSTEM IN BLOOD AND TISSUES OF PREGNANT RATS

Summary
The effect of chromium citrate in dose of 10 μg Cr^{3+}/kg includes the products of lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in blood and tissues of pregnant female laboratory rats was studied. It was established that the influence of chromium citrate increased the activity of superoxide dismutase in blood (in 1,3 times), muscles (in 3,0 times), brain (in 3,2 times), spleen (in 3,5 times), heart (in 6,3 times) and catalase – in muscles (in 1,2 times), kidney (in 1,4 times), spleen (in 1,5 times) of females during pregnancy.

Key words: rat, chromium citrate, pregnancy, antioxidant system.

УДК 582.751.42:581.48

А. Н. Левчук, аспирант
Е. Н. Войтович, к.б.н., доцент
В. А. Лях, д.б.н.
Запорожский национальный университет, кафедра садово-паркового хозяйства и генетики растений,
ул. Жуковского, 66, Запорожье, 69063, Украина, e-mail: genetika@znu.edu.ua

ЛЕКТИНОВАЯ АКТИВНОСТЬ КИСЛОЙ ЛИПАЗЫ СЕМЯН ЛЬНА МАСЛИЧНОГО (*LINUM HUMILE* MILL.)

Исследовали взаимосвязь липолитической и лектиновой активности семян трех генотипов льна масличного (*Linum humile* Mill.). Установлено, что препараты липазы, выделенные при оптимальном для каждого генотипа значении pH, обладают наиболее высоким уровнем лектиновой и липолитической активности. Лектиновая активность в зависимости от концентрации проявляется по-разному. При высоких концентрациях белка в выделенном препарате (0,16–1,68 (мг/мл)$^{-1}$) лектиновая активность проявляется в виде гемолиза трипсинизированных эритроцитов кролика, а при низких ($1{,}35\times10^3$ – $1{,}85\times10^9$ (мкг/мл)$^{-1}$) – в виде их агглютинации.

Ключевые слова: *Linum humile*, лектины, кислая липаза, липолитическая, гемагглютинирующая, гемолитическая активность.

Основную роль в иммобилизации запасных веществ играют гидролитические ферменты. Так, липаза, присутствующая в семенах масличных культур, способна расщеплять жиры на жирные кислоты и глицерин [4]. У масличных культур обычно присутствуют две липазы: кислая, которая активируется при набухании семян в кислой среде (pH 4,0–5,5), и нейтральная (pH 6,0–8,0), функционирующая на стадии прорастания семени [4].

В последнее время все больше внимания уделяется таким биологически активным веществам как лектины (лектиноподобные белки или агглютинины). Благодаря своей способности распознавать и избирательно связывать углеводы клеточных поверхностей они находят очень широкое применение в препаративной биологии и медицине [2, 9]. Установлено, что роль лектинов не ограничивается распознаванием только углеводов, они способны узнавать белки, липиды, витамины, фитогормоны и т.д. [8, 13]. Среди лектинов найдены так называемые бифункциональные лектины [10, 15], обладающие, кроме углеводсвязывающей, ещё и ферментативной активностью. Известны также лектины, способные регулировать работу ферментов [11]. Так, по мнению некоторых авторов, одной из основных функций лектинов в микроорганизмах, растениях и животных является кофункционирование с литическими ферментами [17]. Лектины распознают углеводсодержащие рецепторы, прикрепляются к ним и индуцируют ферментативную активность.

Гилбоа-Гарбер [17] была выдвинута гипотеза, согласно которой носителем одновременно ферментативной и лектиновой активности может быть или один бифункциональный лектин – белковая молекула, которая имеет как ферментативный, так и лектиновый домен, или две отдельные молекулы – фермент и лектин, которые образуют сложный лектин-ферментный комплекс. Аналогичная

© А. Н. Левчук, Е. Н. Войтович, В. А. Лях, 2012

гипотеза была приведена также другими авторами: относительно взаимосвязи лектиновой и определенных ферментативных активностей (α-, β-глюкозидазных и β-галактозидазной у микроорганизмов рода *Azospirillus* [1], протеолитической активности у *Bacillus polymyxa* [12]).

С другой стороны, известно, что некоторые гидролитические ферменты растений (например, амилаза) могут проявлять лектиновую активность [10, 15].

Кроме того, известно, что помимо гемагглютинирующей, некоторые лектиноподобные белки растений (группа рибосоминактивирующих лектинов) обладают и гемолитической активностью [20, 21]. Такие лектины были обнаружены в составе грибов родов *Laetiporus*, *Amanita*, *Mycena* [3, 18]. В пользу того, что фитолектины могут вызывать гемолиз эритроцитов свидетельствуют, в частности, результаты исследования механизмов гемолитической активности холерных вибрионов, в ходе которых было показано участие лектинового рецептора возбудителя в лизизе эритроцитов [6]. Кроме того, была обнаружена гемолитическая активность у лектиновых экстрактов ряда лекарственных растений [5].

При сравнении аминокислотного состава липазы *Euphorbia characias* и лектина (В-цепи рицина) [19] выявили гомологию на 42,5 % и на основе этого выдвинули гипотезу о том, что лектиновая и липолитическая активность семян растений семейства молочайных связаны между собой. В дальнейшем было установлено, что именно В-цепь рицина обладает липолитической активностью.

Целью работы было выделение и определение активности кислой липазы семян льна, а также определение лектиновой активности полученного ферментного препарата.

Материалы и методы исследования

Определяли липолитическую и лектиновую активность семян льна масличного (*Linum humile* Mill.) сортообразцов Золотистый, К-7276 и К-7354, существенно различающихся по уровню масличности. Так, масличность сорта Золотистый составляет 49 %, К-7276 – 42,0 %, а К-7354 – 38,7 %.

Семена (0,5 *г*) измельчали и гомогенизировали в течение 20 *мин* с добавлением 10 *мл* 0,1 М цитрат-фосфатного буферного раствора с разными значениями pH (4,0; 4,2; 4,4; 4,6; 4,8; 5,0; 5,2 и 5,4) для извлечения кислой липазы (КФ 3.1.1.3) [4]. Полученную суспензию центрифугировали при 10 000 *g* в течение 15 *мин*, отбирали верхний жировой слой и высаливали содержащиеся в экстракте белки (в том числе и липазу) с помощью 2 *мл* насыщенного раствора хлорида натрия с 0,05 % содержанием Тритона Х-100. Полученный осадок отделяли центрифугированием (10 000 *g* в течение 15 *мин*) и разводили в 0,4 *мл* 0,9 % раствора хлорида натрия (экстракт кислой липазы). От Тритона Х-100 избавлялись при помощи изоамилового спирта: к 0,4 *мл* полученного экстракта добавляли 1 *мл* изоамилового спирта, встряхивали и центрифугировали при 8 000 *g* в течение 5 *мин* – тритон Х-100 переходил при этом в верхний изоамиловый слой, липаза оставалась в нижнем солевом слое, который считали препаратом липазы и использовали для определения липолитической активности, титра гемагглютинации и титра гемолиза. Активность липазы определяли титрометрическим методом [14]. Количество органических кислот до и после действия фермента устанавливали путём титрования инкубационной смеси 0,1 *н* раствором гидроксида натрия. Лектиновую (агглютинирующую и гемолитическую) активность определяли по реакции гемагглютинации

с 2 % суспензией трипсинизированных эритроцитов кролика [2, 9]. За критерий лектиновой и гемолитической активностей принимали минимальное количество белка, при котором наблюдается гемагглютинация или гемолиз соответственно, причем активность выражали как обратную величину – коэффициент гемагглютинирующей *(мкг/мл)*$^{-1}$ и гемолитической активности *(мг/мл)*$^{-1}$. Изменение формы эритроцитов при воздействии лектинов в процессе гемолиза регистрировали на микроскопических препаратах при помощи тринокулярного микроскопа XS-3330 и окулярной камеры MA88-500 при увеличении ×1 600: на предметное стекло помещали 5 *мкл* суспензии эритроцитов и добавляли к ней равный объём экстракта кислой липазы (опыт) или 0,9 % раствора хлорида натрия (контроль). Общее содержание белка в экстракте определяли по методу Варбурга-Кристиана [16]. Исследования проводили при пятикратном повторе, результаты обрабатывали с помощью стандартных статистических методов [7].

Результаты исследования и обсуждение

Установлено, что кислая липаза различных генотипов льна масличного имеет разный оптимум pH. Максимальную активность липаза семян льна сортообразца Золотистый проявляет при pH 4,4; К-7276 – при pH 4,2; а К-7354 – при pH 4,0 (табл. 1).

Таблица 1

Липолитическая активность (мл 0,1 н гидрооксида натрия) семян льна масличного в зависимости от pH экстрагента

№ п/п	pH экстрагента	Название сортообразца		
		Золотистый	К-7276	К-7354
1.	4,0	1,82 ± 0,330**	0,35 ± 0,031*	***0,30 ± 0,030***
2.	4,2	2,98 ± 0,675*	***0,55 ± 0,075***	0,10 ± 0,003**
3.	4,4	***3,88 ± 0,860***	0,26 ± 0,019*	0,08 ± 0,011**
4.	4,6	1,56 ± 0,245**	0,18 ± 0,029**	0,06 ± 0,006**
5.	4,8	0,98 ± 0,358**	0,16 ± 0,006**	0,05 ± 0,016**
6.	5,0	0,88 ± 0,235**	0,04 ± 0,004**	0,03 ± 0,007***
7.	5,2	0,19 ± 0,075***	0,01 ± 0,003**	0,01 ± 0,003***
8.	5,4	1,11 ± 0,223***	0,01 ± 0,002**	0,01 ± 0,004***

Примечание: *, **, *** – отличия от выделения при оптимальном значении pH достоверны при $P < 0,05$; 0,01 и 0,001 соответственно; значение липолитической активности при оптимальной кислотности для каждого генотипа выделено жирным курсивом.

При различных значениях pH липолитическая активность существенно колебалась. Так, у препарата липазы семян сортообразца Золотистый липолитическая активность варьировала от 0,19 до 3,88 единиц удельной активности (при оптимальных условиях). У сортообразцов К-7276 и К-7354 диапазон регистрируе-

мой липолитической активности составил 0,01–0,55 и 0,01–0,30 единиц активности соответственно (табл. 1).

Уровень липолитической активности семян зависит от сортообразца льна (табл. 1). Так, активность липазы у сортообразца Золотистый намного выше по сравнению с другими сортами и составляет около 4 единиц активности. Активность этого фермента у семян сортообразцов К-7276 и К-7354 значительно ниже и составляет около 0,5 и 0,3 единиц соответственно. В аналогичный последовательный ряд исследованные сортообразцы располагаются и по содержанию масла в семенах. Поэтому можно предположить наличие положительной корреляционной связи между этими признаками.

Кроме того, полученные нами препараты кислой липазы проявляли лектиновую (гемагглютинирующую) активность, уровень которой также зависел от условий выделения (табл. 2).

Таблица 2

Коэффициент лектиновой (гемагглютинирующей) активности (мкг / мл)$^{-1}$ семян льна масличного в зависимости от pH экстрагента

№ п/п	pH экстрагента	Название сортообразца		
		Золотистый	**К-7276**	**К-7354**
1.	4,0	7,56 ± 0,488***	(2,35 ± 0,205)×10^{3}**	***(1,85 ± 0,181)×10^{9}***
2.	4,2	21,53 ± 0,522***	***(1,88 ± 0,248)×10^{5}***	(3,92 ± 0,253)×10^{8}**
3.	4,4	***1351,36 ± 66,627***	(8,64 ± 0,566)×10^{2}**	(3,74 ± 0,859)×10^{6}***
4.	4,6	1,48 ± 0,157***	(1,37 ± 0,071)×10^{2}**	(1,72 ± 0,407)×10^{5}***
5.	4,8	0,97 ± 0,131***	12,05 ± 0,871**	(4,15 ± 0,748)×10^{5}***
6.	5,0	0,44 ± 0,048***	0,94 ± 0,036**	(4,19 ± 1,539)×10^{2}***
7.	5,2	0,11 ± 0,011***	0,32 ± 0,014**	49,42 ± 10,067***
8.	5,4	0,48 ± 0,053***	0,03 ± 0,001**	0,18 ± 0,027***

Примечание: То же, что и в таблице 1.

Наибольший коэффициент гемагглютинирующей активности был выявлен у сорта К-7354, а наименьший – у Золотистый. При этом колебания в зависимости от кислотности среды были существенными, отличались в сотни раз и зависели от источника фермента. Так, препарат липазы семян сортообразца К-7276 имел самый высокий коэффициент гемагглютинирующей активности (1,88 × 10^{5} (мкг/мл)$^{-1}$) при pH 4,2, которая при незначительном уменьшении кислотности среды (при pH 4,0) снижалась примерно в 80 раз, а при pH 4,4 – в 200 раз.

Зависимость между значением коэффициента гемагглютинирующей активности и масличностью исследованных сортообразцов – обратная: образцы с высоким содержанием масла имели низкую лектиновую активность и наоборот. Так, у высокомасличного сортообразца Золотистый коэффициент лектиновой активности оказался наименьшим и при оптимальной кислотности среды составил 1351,36 (мкг/мл)$^{-1}$, у среднемасличного сортообразца К-7276 лектиновая

активность оказалась выше примерно в 140 раз и составила $1,88 \times 10^5$ (мкг/мл)$^{-1}$, а у низкомасличного К-7354 – в 14×10^5 раз.

В результате проведённых исследований было выявлено, что «препараты кислой липазы» льна масличного обладают одновременно липолитической и лектиновой активностью.

Высокие показатели лектиновой активности и большие различия между лектиновой активностью у одного генотипа (сортообразца) в разных условиях выделения и между различными генотипами в одинаковых условиях объяснялось использованием для определения активности лектинов трипсинизированных эритроцитов кролика, которые являются на несколько порядков более чувствительными к лектинам льна по сравнению с эритроцитами человека (наши экспериментальные данные).

Прослеживается зависимость липолитической и лектиновой активности выделенных препаратов в зависимости от pH среды. Так, у препаратов, выделенных из семян сорта Золотистого, максимальная и лектиновая, и липолитическая активность наблюдается при pH 4,4; у препаратов, полученных из семян К-7276, – при pH 4,2; а у препаратов, полученных из генотипа К-7354 – при pH 4,0. Вообще, pH-зависимое изменение обоих активностей носит генотипо-специфичный характер. Это подтверждается достаточно высокими коэффициентами корреляции: для сорта Золотистый +0,74, для сортообразцов К-7276 и К-7354 – +0,77 и +0,96 соответственно.

Было обнаружено, что помимо гемагглютинирующей активности выделенный препарат липазы обладает ещё и гемолитической. Так, при оптимальных условиях экстракции для высокомасличного сорта Золотистый коэффициент гемолитической активности был равен 0,16 ± 0,008 (мг/мл)$^{-1}$, для среднемасличного сортообразца К-7276 – 0,35 ± 0,008 (мг/мл)$^{-1}$, а для низкомасличного К-7354 – 1,68 ± 0,165 (мг/мл)$^{-1}$. Различия между гемолитической активностью у различных сортообразцов оказались достоверно значимыми. Динамика развития гемолиза при действии лектинов следующая: через 10–30 минут после начала реакции лектины в большой концентрации (порядка мг / мл) вызывают изменение формы эритроцитов, что, в конечном счете, и приводит через 1,5–2 часа к их гемолизу (рис. 1).

Выявлено, что изменение формы эритроцитов при воздействии лектинов зависит от генотипа льна. Так, в контроле (0,9 % раствор хлорида натрия) эритроциты имеют округлую правильную форму без деформаций (рис. 1*а*), лектины сорта Золотистый вызывают приобретение эритроцитами амебовидной формы (рис. 1*б*), сортообразца К-7276 – приводят к удлинению эритроцитов и скручиванию в трубочку (рис. 1*в*), а сортообразца К-7354 – к сморщиванию эритроцитов (рис. 1*г*).

Обнаружено, что препарат с высоким значением лектиновой активности (титр от 1:1 до 1:16 для сортообразцов К-7276 та К-7354 и титр от 1:1 до 1:64 для сорта Золотистый) обладает гемолитическим эффектом.

Обнаружение в выделенном препарате гемолитической активности позволяет предположить присутствие в нём лектиноподобных белков группы рибосоминактивирующих лектинов.

Динамика развития реакции гемолиза оказалась иной у препаратов, выделенных из разных генотипов льна. Аналогичную специфичность показал и общий уровень гемагглютинирующей и гемолитической активностей выделенных препаратов (табл. 1 и 2). Так, наибольшие значения обеих характеристик отмечены для

«препарата кислой липазы», выделенного из семян сорта К-7354, а наименьшие – из семян сорта Золотистый.

Таким образом, полученные препараты активной кислой липазы семян льна обнаружили лектиновую активность и показали зависимость ее уровня от генотипа и условий выделения. Установленная корреляционная связь (коэффициент корреляции составляет от +0,74 до +0,96 в зависимости от генотипа) между этими признаками позволяет предположить существование лектин-ферментного функционального комплекса. Целесообразность такого объединения базируется на одновременной оптимизации процессов презентации и утилизации запасных веществ на начальном этапе онтогенеза *Linum humile* Mill.

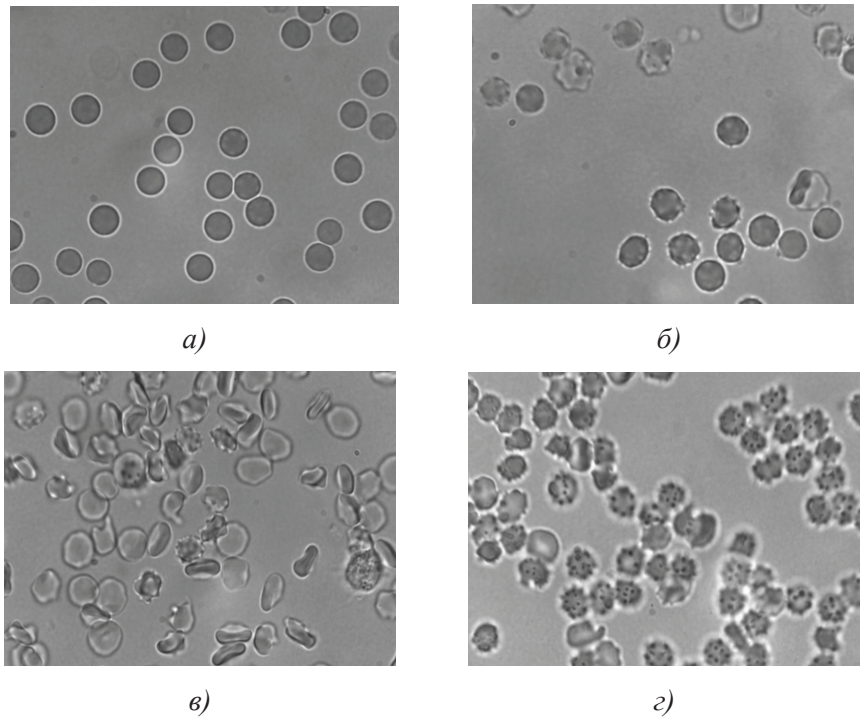

Рис. 1. Изменение формы эритроцитов при воздействии лектинов семян льна масличного различных генотипов: *а)* контроль; *б)* сорт Золотистый (0,16 мг/мл)$^{-1}$; *в)* сортообразцов К-7276 (0,35 мг/мл)$^{-1}$; *г)* сортообразцов К-7354 (1,68 мг/мл)$^{-1}$.

Выводы

У препарата кислой липазы, выделенной из семян льна масличного, помимо липолитической обнаружена также лектиновая активность.

Выявленная положительная корреляция между лектиновой и липолитической активностями предполагает существование лектин-ферментного функционального комплекса, обеспечивающего эффективную мобилизацию запасного материала семян *Linum humile* Mill.

Лектиновая активность семян льна по-разному проявляется в зависимости от концентрации белка в препарате: при высоких концентрациях – в виде гемолиза, а при низких – в виде агглютинации трипсинизированных эритроцитов кролика.

Список используемой литературы

1. *Аленькина С. А.* Изучение взаимосвязи лектиновой, α-, β-глюкозидазных и β-галактозидазной активности азоспирилл / С. А. Аленькина, В. Е. Никитина, М. В. Борисова-Головко // Микробиология. — 2001. — Т. 70, № 5. — С. 647–650.
2. *Антонюк В. О.* Лектини та їх сировинні джерела / В. О. Антонюк. — Л.: Основа, 2005. — 554 с.
3. *Антонюк В. О.* Вуглеводна специфічність лектину, одержаного з плодових тіл міцени чистої (*Micena pura* Kumm.), та його використання у гістохімічних дослідженнях / В. О. Антонюк, А. М. Ященко, Р. В. Антонюк, Н. О. Амбарова // Biopolymers and Cells. — 2009. — Vol. 25(6). — P. 466–475.
4. *Броберхоф Х.* Липолитические ферменты / Х. Броберхоф, Р. Дженсен. — М.: Мир, 1978. — 396 с.
5. *Канделинская О. Л.* Лектины лекарственных растений дикорастущей флоры Беларуси: перспективы использования / О. Л. Канделинская, Е. Р. Грищенко, Л. В. Обуховсткая и др. // Вестник Фонда фундаментальных исследований. — 2011. — № 2. — С. 169–184.
6. *Колякина А. В.* Лектиновые рецепторы холерных вибрионов : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук.: спец. 03.00.07 «Микробиология» / А. В. Колякина. — Ставрополь, 2009. — 18 с.
7. *Лакин Г. Ф.* Биометрия / Г. Ф. Лакин. — М.: Высшая школа, 1990. — 351 с.
8. *Линевич Л. И.* Лектины и углевод– белковое узнавание на разных уровнях организации живого / Л. И. Линевич // Успехи биологической химии. — 1979. — Т. 20. — С. 71–89.
9. *Луцик М. Д.* Лектины / М. Д. Луцик., В. М. Панасюк, А. Д. Луцик— Львов: Вища школа, 1981. — 156 с.
10. *Ляшок А. К.* Амілолітична і лектинова активність у проростаючих зернівках озимої пшениці за дії високотемпературного стресу / А. К. Ляшок, І. П. Григорюк, Т. П. Нижнік, П. О. Феоктісов // Физиология и биохимия культурных растений. — 2003. — Т. 35, № 2. — С. 172–177.
11. *Марков Е. Ю.* Лектины растений: предполагаемые функции / Е. Ю. Марков, Э. Е. Хавкин // Физиология растений. — 1983. — Т. 30, № 5. — С. 852–867.
12. *Мельникова У. Ю.* Протеолитическая активность лектинов азотфиксирующих бактерий *Bacillus polymyxa* / У. Ю. Мельникова, Л. В. Карпунина, Н. В.Остахина, В. В. Игнатов // Микробиология. — 2001. — Т. 70, № 2. — С. 259–262.
13. *Мирошниченко О. С.* Лектины и распознавание белковых лигандов / О. С. Мирошниченко // Український біохімічний журнал. — 1999. — Т. 71, № 5. — С. 5–9.
14. *Практикум* по биохимии / под ред. С. Е. Северина, Г. А. Соловьёвой. — М.: МГУ, 1989. — С. 81–83.
15. *Феоктісов П. О.* Сполученість в динаміці амілолітичної та лектинової активності в процесі проростання зернівок озимої пшениці / П. О. Феоктісов, І. П. Григорюк, А. К. Ляшок // Физиология и биохимия культурных растений. — 2002. — Т. 34, № 3. — С. 260–263.
16. *Dawson R.* Data for Biochemical Research / R. Dawson, D. Elliott, U. Elliott, K. Jones. — 2nd edn. Oxford: Clarendon Press, 1986. — 464 p.
17. *Gilboa–Garber N.* — Purification of the galactose– binding hemagglutinin of Pseudomonas aeruginosa by affinity column chromatography using sepharose / N. Gilboa– Garber, L. Mizrahy, N. Garber // FEBS Lett. — 1972. — Vol. 28. — P. 93–95.

18. *Khan F.* Fungal lectins: current molecular and biochemical perspectives / F Khan, M. I. Khan // International J. of Biological Chemistry. — 2011. — Vol. 5, № 1. — P. 1–20.
19. *Moulin A.* Lipases of the Euphorbiaceae family: purification of a lipase from *Euphorbia characias* and structure-function relationships with the B chain of ricin / A. Moulin, M. Teissere, Ch. Bernard, G. Pierony // Biochemistry. — 1994. — Vol. 91. — P. 11328–11332.
20. *Patocka J., Streda L.* Plant toxic proteins and their significance for warfare and medicine / J. Patocka, L. Streda // J. of Applied Biomedicine. — 2003. — Vol. 1. — P. 141–147.
21. *Sehgal P.* Purification, characterization and toxicity profile of ricin isoforms from castor beans / P. Sehgal, M. Khan, O. Kumar, R. Vijayaraghavan // Food Chem. Toxicol. — 2010. — Vol. 48, N. 11. — P. 3171–3176.

Статья поступила в редакцию 24.09.2012

Г. М. Левчук, О. М. Войтович, В. О. Лях
Запорізький національний університет, кафедра садово-паркового господарства та генетики рослин,
вул. Жуковського, 66, Запоріжжя, 69600, Україна

ЛЕКТИНОВА АКТИВНІСТЬ КИСЛОЇ ЛІПАЗИ НАСІННЯ ЛЬОНУ ОЛІЙНОГО (*LINUM HUMILE* MILL.)

Резюме
Досліджували взаємозв'язок ліполітичної та лектинової активності насіння трьох генотипів льону олійного (*Linum humile* Mill.). Встановлено, що препарати ліпази, які були виділені при оптимальному для кожного генотипу значенні pH, мають найвищий рівень лектинової та ліполітичної активності. Лектинова активність залежно від концентрації проявляється по-різному. За високих концентрації білку у виділеному препараті (0,16–1,68 (мг/мл)$^{-1}$) лектинова активність проявляється у вигляді гемолізу трипсинизованих еритроцитів кроля, а при низьких (1,35 × 10^3 – 1,85×10^9 (мкг/мл)$^{-1}$) – у вигляді їх аглютинації.

Ключові слова: *Linum humile* Mill., лектини, кисла ліпаза, ліполітична, гемаглютинуюча, гемолітична активність.

A. N. Levchuk, H. N. Voitovych, V. A. Lyakh
Zaporizhzhya National University, Department of Land-scage Industry and Plant Genetics, 66, Zhukovskogo Str., Zaporizhzhya, 69600, Ukraine

THE LECTIN ACTIVITY OF SOUR LIPASE IN SEEDS OF OIL FLAX (*LINUM HUMILE* MILL.)

Summary
The interconnection between lipolytic and lectin activity in the seeds of three oil flax (*Linum humile* Mill.) genotypes was investigated. It was found that lipase preparation, extracted at optimal for every genotype pH, showed the highest level of lectin and lipolytic activity. Depending on the concentration of protein the lectin activity appears in different way. At high concentrations of protein in the isolated preparation (0,16 – 1,68 (mg/ml)$^{-1}$) lectin activity causes haemolysis of trypsinized rabbit erythrocytes, but at low (1,35 × 10^3 – 1,85×10^9 (mkg/ml)$^{-1}$) concentration causes their agglutination.

Key words: *Linum humile* Mill., *lectins,* drug lipase, lipolytic activity, hemagglutinin activity, haemolytic activity.

БОТАНІКА, ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

УДК 582.736.3: 577.112.34

О. М. Вергун, к.б.н., науковий співробітник
О. В. Шиманська, провідний інженер
Д. Б. Рахметов, д.с-г.н., професор
Національний ботанічний сад ім. М. М. Гришка НАН України, відділ нових культур,
вул. Тімірязєвська, 1, Київ, 01014, Україна, (044) 2850120,
e-mail: e_vergun@mail.ru

БІОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОСЛИН РОДУ *GALEGA L.* В ПРАВОБЕРЕЖНОМУ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ

Досліджено біохімічний склад надземної та підземної частини рослин *Galega officinalis* L., *G. orientalis* Lam. в умовах Правобережного Лісостепу України. Виявлено високий вміст протеїну (*G. orientalis* – 29,42; *G. officinalis* – 30,44 %), аскорбінової кислоти (*G. orientalis* – 436,70; *G. officinalis* – 595,12 мг%), каротину (*G. orientalis* – 1,49; *G. officinalis* – 2,07 мг%), ліпідів (*G. orientalis* – 3,85; *G. officinalis* – 5,06 %) в надземній частині досліджуваних рослин в фазу стеблування. В підземній частині рослин *G. orientalis* відмічено високий вміст сухої речовини (55,58 %) в період цвітіння, золи (44,39 %) в період стеблування; у рослин *G. officinalis* – ліпідів (4,83 %) в період цвітіння, азоту (2,35 %) в період стеблування, цукрів (7,68 %), фосфору (0,75 %) та кальцію (1,41 %) в період бутонізації.

Ключові слова: *Galega officinalis*, *G. orientalis*, біохімічні особливості.

Види роду *Galega* L. (Козлятник) – високопродуктивні, екологічно пластичні рослини поліфункціонального значення. Рослини даного роду відомі як важливі азотфіксуючі кормові [14, 15, 17, 18, 21, 22, 25], силосні [23], енергетичні [11, 16] та лікарські культури з гіпоглікемічними властивостями [20, 26].

При дослідженні полісахаридного комплексу насіння рослин *G. orientalis* ідентифіковано галактоманнани, що виконують функції енергетичного резерву, регуляторів водного балансу насіння; використовуються в якості харчових добавок, стабілізаторів, флокулянтів тощо [7]. Рослини даного роду є конкурентоздатними порівняно з традиційними кормовими культурами завдяки високій концентрації протеїну та таких амінокислот як аспарагін, фенілаланін та глютамінова кислота [13]. В пагонах та підземній частині *G. orientalis* виявлено комплекс фенольних сполук. Встановлено рівень алелопатичної активності водних витяжок різних органів даних рослин [12]. Досліджено полістероли та пентациклічні тритерпеноїди підземної частини рослин *G. officinalis* [24]. В умовах Полісся України досліджено, що в період цвітіння в надземній частині рослин *G. orientalis* накопичується протеїну – 23,4 %, клітковини – 27,1 %, золи – 5,5 %, аскорбінової кислоти – 161,2 мг%; *G. officinalis* переважають за вмістом сухої речовини – 24,2 %, ліпідів –5,9 %, загального вмісту цукрів – 7,0 %. Вміст аскорбінової кислоти в цей період у *G. officinalis* становив лише 49,5 мг% [1].

Враховуючи це, метою даної роботи було визначення біохімічного складу надземної та підземної частини рослин *G. officinalis* та *G. orientalis* протягом вегетації в Правобережному Лісостепу України.

© О. М. Вергун, О. В. Шиманська, Д. Б. Рахметов, 2012

Матеріали та методи

Дослідження проведено в Національному ботанічному саду імені М. М. Гришка НАН України та дослідному сільськогосподарському виробництві Інституту фізіології рослин та генетики НАН України (ДСВ ІФРГ НАН України "Глеваха"). Об'єктами досліджень були рослини видів роду *Galega* L.: *G. officinalis* L. (Козлятник лікарський), *G. orientalis* Lam. (К. східний). Дослідні рослини вирощувались на темно-сірих опідзолених малогумусних ґрунтах; вміст гумусу 2,5–2,6 %, pH сольовий – 5,0–6,0, водний – 6,1–6,8. Спосіб сівби рослин – широкорядний (на 45 см). Площа дослідних ділянок становила 40 м^2; облікова площа – 25 м^2. Повторність досліду чотириразова. Схема розміщення ділянок рендомізована.

Рослинна сировина аналізувалась протягом фаз стеблування, бутонізації та цвітіння. Для біохімічного аналізу використовували надземну та підземну частину п'ятнадцяти рослин кожного виду, подрібнювали та перемішували для взяття середньої проби. Дослідження проводились у трьох біохімічних повторностях. Абсолютно суху речовину визначали шляхом висушування зразків при температурі 105 °C до постійної ваги; вміст жирів – методом визначення знежиреного залишку; сиру клітковину – за Геннебергом та Штоманом; кальцій – трилонометричним методом [4]; протеїн – методом К'єльдаля; фосфор – об'ємним методом з молібденовою рідиною [10]; золу – методом спалювання в муфельній печі (300–700 °C); мокре озолення – методом Куркаєва; аскорбінову кислоту – за Муррі [2]; каротин – спектрофотометрично із застосуванням розчинника бензину Калоша (спектрофотометр UNICO 2800) [9]; загальний вміст цукрів – за Крищенко [5].

Отримані дані обраховувались статистично [3; 6]. Достовірність відмінностей між середніми арифметичними визначали за t-критерієм Стьюдента при рівні значущості $p < 0,05$ (порівняно з іншим видом).

Результати та обговорення

При дослідженні біохімічного складу надземної частини рослин двох видів роду *Galega* L. виявлено, що протягом вегетації збільшувався вміст сухої речовини, який був максимальним в фазу цвітіння (рис. 1).

Дослідженнями вмісту протеїну виявлено, що найбільше його накопичувалось в надземній частині у період стеблування: у *G. officinalis* – 30,44 ± 0,71 %, у *G. orientalis* – 29,42 ± 0,20 %. У рослин *G. orientalis* спостерігалось зменшення протеїну протягом вегетації (стеблування-цвітіння). У зразків *G. orientalis* зафіксовано зменшення протеїну в фазу бутонізації порівняно з стеблуванням та збільшення його протягом періоду бутонізації-цвітіння.

Найбільшим вмістом клітковини рослини досліджуваних видів відрізнялись в фазу бутонізації, що ймовірно, пов'язано з специфічними умовами вегетаційних періодів. Так, для рослин *G. officinalis* цей показник становив 29,17 ± 0,64 %, для *G. orientalis* – 30,82 ± 0,51 %. В фазу цвітіння у рослин *G. officinalis* рівень клітковини знижувався на 18,01 % і був мінімальним. У рослин *G. officinalis* найнижчий рівень її спостерігався у період стеблування і був на 7,71 % нижчим від максимального значення.

Накопичення вмісту цукрів в різних органах рослин є показником пристосування їх до різних умов існування. Загальний вміст цукрів у рослин обох видів був максимальним в період цвітіння і становив 7,81 ± 0,12 % для *G. officinalis* та 8,13 ± 0,16 % для *G. orientale*. Мінімальний вміст його у рослин *G. officinalis* спостерігався в період бутонізації, у рослин *G. orientalis* – у період стеблування.

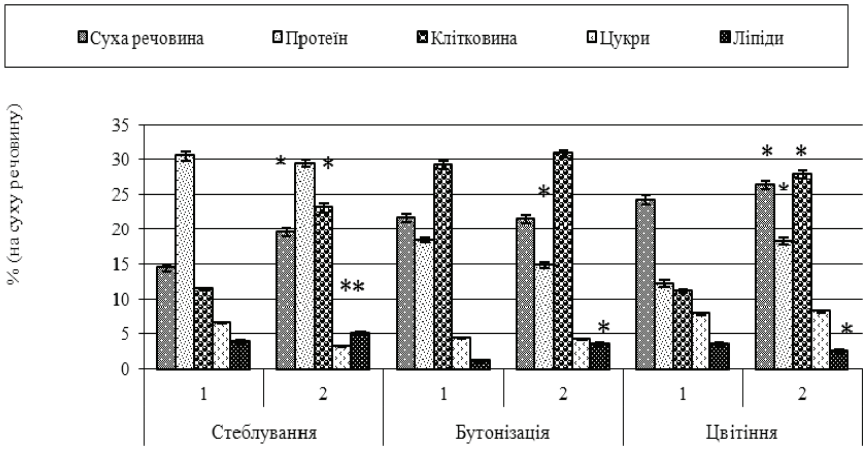

Рис. 1. Біохімічна характеристика надземної частини рослин *Galega officinalis* (1) та *G.orientalis* (2) залежно від фази розвитку.
Примітка: * – різниця достовірна порівняно з іншим видом, $p < 0,05$.

Максимальне накопичення ліпідів у досліджуваних рослин відмічено в фазу стеблування: 3,85 ± 0,08 % для *G. officinalis* та 5,06 ± 0,09 % для *G. orientalis* . Мінімальним вмістом ліпідів рослини *G. officinalis* відрізнялись в фазу бутонізації, а рослини *G. orientalis* – у фазу цвітіння.

В надземній масі досліджуваних рослин найбільше азоту накопичувалось в фазу стеблування (рис. 2). Найменший рівень його у рослин *G. officinalis* спостерігався в фазу цвітіння, у *G. orientalis* – у фазу бутонізації.

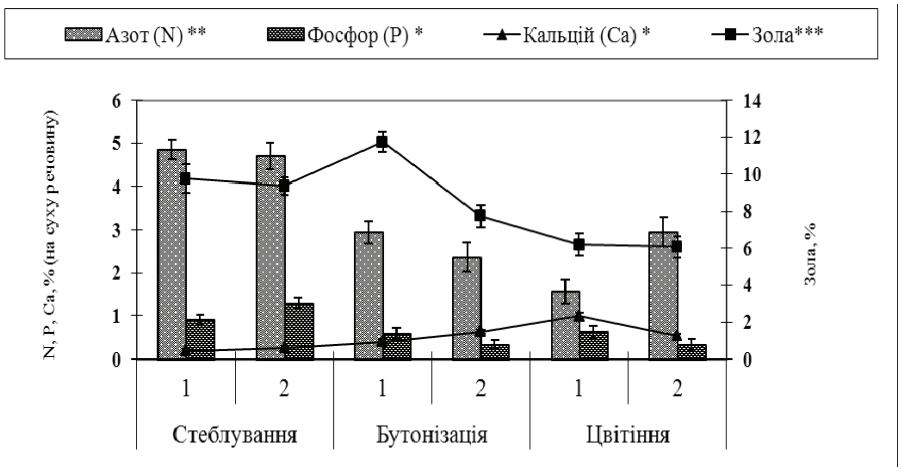

Рис. 2. Вміст мінеральних речовин в надземній частині рослин видів *Galega officinalis* (1) та *G. orientalis* (2) залежно від фази розвитку.
Примітка: * – різниця достовірна порівняно з іншим видом, $p < 0,05$; ** – різниця достовірна порівняно з іншим видом в період бутонізації та цвітіння, $p < 0,05$; *** – різниця достовірна порівняно з іншим видом в період бутонізації, $p < 0,05$.

Вміст золи, фосфору та кальцію в надземній масі протягом вегетації був нерівномірним. У рослин *G. officinalis* найбільше ідентифіковано фосфору в фазу стеблування (0,92 ± 0,03 %), найменше – в фазу бутонізації (0,59 ± 0,03 %). Кальцій збільшувався протягом вегетації і в період цвітіння його рівень становив 2,33 ± 0,07 %. У рослин *G. orientalis* рівень фосфору та золи зменшувався протягом вегетації, а кальцію – збільшувався в фазу стеблування. Найбільше фосфору у цих рослин накопичувалось в фазу стеблування (1,29 ± 0,04 %), в фазу бутонізації та цвітіння він був однаковим (0,33 ± 0,01 %).

Відомо, що активний синтез аскорбінової кислоти є захисною реакцією рослин в несприятливих умовах [8]. Крім того, вітамін С відіграє важливу роль як природний антиоксидант [15]. Дослідження вмісту аскорбінової кислоти показало, що в надземній масі *G. officinalis* та *G. orientalis* найбільше її накопичувалось в період стеблування – 595,12 ± 8,57 мг% та 436,70 ± 16,21 мг% відповідно (рис. 3).

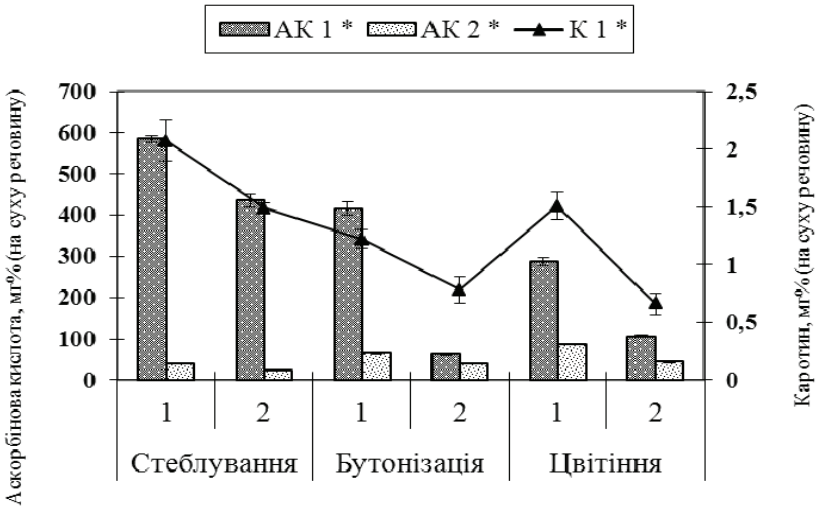

Рис.3. Вміст аскорбінової кислоти та каротину в рослинах видів *Galega officinalis* (1) та *G. orientalis* (2) залежно від фази розвитку. (АК 1 – вміст аскорбінової кислоти в надземній частині; АК 2 – вміст аскорбінової кислоти в підземній частині, К 1 – вміст каротину в надземній частині).

Примітка: * – різниця достовірна порівняно з іншим видом, $p < 0,05$.

Спостерігаючи динаміку накопичення вітаміну С в надземній масі відмічено, що у рослин *G. officinalis* цей показник зменшувався протягом періоду стеблування-цвітіння до 288,17 ± 9,73 мг%. У рослин *G. orientalis* він був найменшим в фазу бутонізації і становив 63,64 ± 2,16 мг%.

В підземній частині рослин *G. officinalis* спостерігалось збільшення вітаміну С протягом вегетації, в підземній частині рослин *G. orientalis* накопичення відбувалось нерівномірно.

За вмістом сухої речовини в підземній частині протягом вегетації переважали рослини виду *G. orientalis*. В фазу стеблування рівень її у рослин цього виду був на 23,1 %, бутонізації – на 20,3 %, цвітіння – на 26,0 % більшим, ніж у рослин *G. officinalis* (табл. 1). В підземній частині рослин *G. officinalis* спостерігалось

зменшення вмісту протеїну протягом вегетації. В період стеблування його рівень був на 6,1 % більше, ніж у період цвітіння. У рослин *G. orientalis* вміст протеїну був максимальним в період цвітіння.

Таблиця 1

Біохімічна характеристика підземної частини рослин Galega officinalis та G. orientalis залежно від фази розвитку

Показник	Вид	Фаза розвитку		
		Стеблування	Бутонізація	Цвітіння
Суха речовина, %	*G. officinale*	28,25 ± 0,09	27,04 ± 0,23	29,58 ± 0,31
	G. orientalis	51,34 ± 0,78*	47,38 ± 0,73*	55,58 ± 1,05*
Протеїн, %	*G. officinale*	14,67 ± 0,11	10,06 ± 0,16	8,53 ± 0,07
	G. orientalis	8,15 ± 0,07*	7,87 ± 0,06*	9,22 ± 0,12
Ліпіди, %	*G. officinale*	2,77 ± 0,10	2,65 ± 0,12	4,83 ± 0,08
	G. orientalis	0,81 ± 0,04*	0,38 ± 0,02*	1,37 ± 0,09*
Зола, %	*G. officinale*	26,54 ± 0,70	27,18 ± 0,39	17,15 ± 0,21
	G. orientalis	44,39 ± 0,75*	37,33 ± 0,65*	25,41 ± 0,53*
Цукри, %	*G. officinale*	4,09 ± 0,05	7,68 ± 0,08	5,88 ± 0,07
	G. orientalis	2,15 ± 0,04*	3,69 ± 0,07*	3,57 ± 0,06*
Азот, %	*G. officinale*	2,35 ± 0,07	1,62 ± 0,05	1,38 ± 0,03
	G. orientalis	1,30 ± 0,04*	1,26 ± 0,04*	1,47 ± 0,04
Фосфор, %	*G. officinale*	0,65 ± 0,02	0,75 ± 0,03	0,21 ± 0,01
	G. orientalis	0,42 ± 0,02*	0,10 ± 0,01*	0,14 ± 0,01*
Кальцій, %	*G. officinale*	0,29 ± 0,01	1,41 ± 0,07	1,24 ± 0,06
	G. orientalis	0,47 ± 0,02*	0,77 ± 0,02*	0,69 ± 0,03*

Примітка: * – різниця достовірна порівняно з іншим видом, $p < 0,05$.

За накопиченням ліпідів в підземній частині протягом вегетації відрізнялись рослини *G. officinalis*. Найбільший вміст їх у цих рослин спостерігався в період цвітіння і становив 4,83 ± 0,08 %. Найменший вміст ліпідів спостерігався у рослин *G. orientalis* в фазу бутонізації. Високий вміст золи протягом вегетації відмічено у рослин *G. orientalis.* В фазу стеблування її вміст був більшим у цих рослин на 17,9 %, ніж у рослин *G. officinalis*, в фазу бутонізації – на 10,2 %,в фазу цвітіння – на 8,3 %. Загальний вміст цукрів в підземній частині досліджуваних рослин був максимальним в період бутонізації, мінімальним – в період стеблування у рослин *G. officinalis*. Максимальний вміст азоту у рослин *G. officinalis* спостерігався в фазу стеблування, у рослин *G. orientalis* – в фазу цвітіння. Найбільше фосфору у рослин *G. officinalis* накопичувалось в фазу бутонізації, у рослин *G. orientalis* – в фазу стеблування. Максимальний рівень кальцію у досліджуваних видів рослин відмічено в період бутонізації.

Висновки

В результаті дослідження біохімічного складу рослин роду *Galega* проведено порівняльний аналіз вмісту основних поживних речовин в надземній та підземній масі. Максимальне накопичення протеїну, ліпідів, каротину, аскорбінової кислоти, азоту та фосфору в надземній масі рослин *G. officinalis* спостерігалось в фазу стеблування; клітковини та золи – в фазу бутонізації; загальний вміст цукрів та кальцію – в фазу цвітіння. У рослин *G. orientalis* найбільший вміст протеїну, ліпідів, золи, каротину, аскорбінової кислоти, азоту, фосфору виявлено в фазу стеблування; клітковини та кальцію – в фазу бутонізації; загальний вміст цукрів – в фазу цвітіння. Отже, найбільшою поживністю надземної частини за визначеними показниками протягом вегетації рослини досліджуваних видів характеризуються в період стеблування.

При дослідженні біохімічного складу підземної частини даних рослин виявлено, що за вмістом сухої речовини, ліпідів, золи *G. officinalis* та *G. orientalis* істотно відрізнялись між собою. Досліджено, що найбільшим вмістом сухої речовини в період цвітіння та золи в період стеблування відрізнялись рослини *G. orientalis*. Найвищий рівень ліпідів в період цвітіння, цукрів в період бутонізації, азоту в період стеблування, фосфору та кальцію в період бутонізації відмічено у рослин *G. officinalis*.

Список використаної літератури

1. *Абрамов О. О.* Козлятник – від інтродукції до використання / О. О. Абрамов. — К.: Наукова думка, 1996. — 140 с.
2. *Грицаєнко З. М.* Методи біологічних та агрохімічних досліджень рослин і ґрунтів / З. М. Грицаєнко, А. О. Грицаєнко, В. П. Карпенко. — К.: НІЧЛАВА, 2003. — 320 с.
3. *Доспехов Б. А.* Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований / Б. А. Доспехов. — М.: Колос, 1979. — 416 с.
4. *Ермаков А. И.* Методы биохимического исследования растений / А. И. Ермаков, В. В. Арасимович, М. И. Смирнова-Иконникова. — Л.: Колос, 1985. — 455 с.
5. *Крищенко В. П.* Методы оценки качества растительной продукции / В. П. Крищенко. — М.: Колос, 1983. — 192 с.
6. *Лакин Г. Ф.* Биометрия: Учебное пособие для биологических спец. вузов / Г. Ф. Лакин. — М.: Высшая школа, 1990. — 352 с.
7. *Лобанова И. Е.* Галактоманнаны семян некоторых видов семейства Fabaceaea Lindl. S. L. в процессах созревания и прорастания / И. Е. Лобанова, О. В. Анулов, В. Д. Щербухин // Растительный мир Азиатской России. — 2008. — № 1. — С. 83–90.
8. *Минич А. С.* Синтез аскорбиновой кислоты и морфогенез Arabidopsis thaliana при адаптации к УФ-А излучению / А. С. Минич, И. Б. Минич, О. В. Шайтарова, Н. Л. Пермякова // Вестник ТГПУ. — 2009. — Вып. 6. — № 84. — С. 126–131.
9. *Плешков Б. П.* Практикум по биохимии растений / Б. П. Плешков. — М.: Колос, 1985. — 256 с.
10. *Починок Х. Н.* Методы биохимического анализа растений / Х. Н. Починок. — К.: Наукова думка, 1976. — 336 с.
11. *Adamovics A.* Biogas production from *Galega orientalis* Lam. and galega-grass biomass / A. Adamovics, V. Dubrovskis, I. Plume, O. Adamovica // *Grassland Science in Europe. — 2011. — Vol. 16. — P. 416–418.*

12. *Baležentiene L.* Biochemical impact of fodder Galega (*Galega orientalis* Lam.) on agroecosystem / L. Balezentiene, A. Kusta // Environmental research engineering and management. — 2011. — Vol. 4 (58). — P. 18–26.
13. *Baležentiene L.* Chemical composition of galega mixture silages / L. Balezentiene, S. Mikulioniene // Agronomy research. — 2006. — Vol. 4. — № 2. — P. 483–492.
14. *Baležentiene L.* Experience of fodder galega (*Galega orientalis* Lam.) and traditional fodder grasses use for forage production in organic farm / L. Balezentiene, V. Spruogis // Veterinarija ir Zootechnika (*Vet Med Zoot*). — 2011. — T. 56. — № 78. — P. 19–26.
15. *Barata-Soares A. D.* Ascorbic acid biosynthesis: a precursor study on plants / A. D. Barata-Soares, M. L. P. A. Gomez, C. H. Mesquita, F. M. Lajolo // Brazilian Journal of Plant Physiology. — 2004. — Vol. 16. — № 3. — P. 147–154.
16. *Dubrovskis V.* Galega biomass for biogas production / V. Dubrovskis, I. Plume, A. Adamovics, V. Auzins, I. Straume // Engineering for Rural Development. Proceedings. — 2008. — P. 61–65.
17. *Gengaihi-El S.* The response of *Galega officinalis* plant to different nitrogen sources and their effect on active ingredients and biological activity / S. El-Gengaihi, A. Y. Ibrahim, S. F. Hendawy, S. R. bd El-hamid // Journal of American Science. — 2011. — Vol. 7. — № 3. — P. 388–398.
18. *Gonzalez-Andres F.* Management of Galega officinalis L. and preliminary results on its potential for milk production improvement in sheep / F. Gonzalez-Andres, P. A. Redondo, R. Pescador, B. Urbano // New Zealand Journal of Agricultural research. — 2004. — Vol. 47. — P. 233–245.
19. *Kaijalainen S.* Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of Rhizobium galegae Strains / S. Kaijalainen, K. Lindstrom // Journal of Bacteriology. — 1989. — Vol. 171. — № 10. — P. 5561–5566.
20. *Khokhla M.* Sugar-lowering effects of Galega officinalis L. / M. Khokhla, G. Kleveta, A. Kotyk, M. Skibitska, Y. Chajka, N. Sybirna // Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska. — 2010. — Vol. XXIII. — № 4 (21). — P. 177–182.
21. *Lindstrom K.* Potential of the Galega – Rizobium galegae system for bioremediation of oil-contaminal soil / K. Lindstrom, M. M. Jussila, H. Hintsa, A. Kaksonen // Food and Technological Biotechnology. — 2003. — Vol. 41. — № 1. — P. 11–16.
22. *Meripold H.* The effect of differences of conventional and organic farming agrotechnical measures on the compliance of the fodder galega 'Gale' seed production to the certification requirements / H. Meripold, H. Loiveke and J. Muur // agronomy research. — 2009. — Vol. 7. — P. 400–405.
23. *Peiretti P. G.* Ensilability characteristic and silagefermentation of Galega (*Galega officinalis* L.) / P. G. Peiretti // Agricultural Journal. — 2009. — Vol. 4. — № 1. — P. 41–45.
24. *Peirs C.* Triterpenoids from the aerial parts of *Galega officinalis* / C. Peirs, N. Fabre, C. Vigor, C. Long, M. Gao // Electronic journal of natural substances. — 2006. — Vol. 1. — P. 6–11.
25. *Terefework* Z. AFLP fingerprinting as a tool to study the genetic diversity of *Rhizobium galegae* isolated from *Galega orientalis* and *Galega officinalis* / Z. Terefework, S. Kaijalainen, K. Lindstrom // Journal of Biotechnology. — 2001. — Vol. 91. — P. 169–180.
26. *Wadkar K. A.* Anti-diabetic potential and indian medicinal plants / K. A. Wadkar, C. S. Magdum, S. S. Patil, N. S. Naikwade // Journal of herbal medicine and toxicology. — 2008. — Vol. 2. — № 1. — P. 45–50.

Стаття надійшла до редакції 18.05.2012

Е. Н. Вергун, О. В. Шиманская, Д. Б. Рахметов
Национальный ботанический сад имени Н. Н. Гришко НАН Украины, отдел новых культур,
ул. Тимирязевская, 1, Киев, 01014, Украина, (044) 2850120, e-mail: e_vergun@mail.ru

БІОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАСТЕНИЙ РОДА *GALEGA* L. В ПРАВОБЕРЕЖНОЙ ЛЕСОСТЕПИ УКРАИНЫ

Резюме
Исследовано биохимический состав надземной та подземной массы растений *Galega officinalis* L., *G. orientalis* Lam. в условиях Правобережной Лесостепи Украины. Определено высокое содержание протеина (*G. orientalis* –29,42; *G. officinalis* – 30,44 %), аскорбиновой кислоты (*G. orientalis* –436,70; *G. officinalis* – 595,12 мг%), каротина (*G. orientalis* – 1,49; *G. officinalis* – 2,07 мг%), липидов (*G. orientalis* – 3,85; *G. officinalis* – 5,06 %) в надземной массе исследованных растений в фазе стеблевания. В подземной части растений *G. orientalis* отмечено высокое содержание сухого вещества (55,58 %) в период цветения, золы (44,39 %) в период стеблевания; у растений *G. officinalis* – липидов (4,83 %) в период цветения, азота (2,35 %) в период стеблевания, сахаров (7,68 %), фосфора (0,75 %) и кальция (1,41 %) в период бутонизации.

Ключевые слова: *Galega officinalis*, *G. orientalis*, биохимические особенности.

O. M. Vergun, O. V. Shymanska, D. B. Rakhmetov
National botanical garden of Ukraine, Department of new culture,
1, Timiryazevska str., Kiyv, 01014, Ukraine, (044) 2850120, e-mail: e_vergun@mail.ru

BIOCHEMICAL CHARACTERISTIC OF *GALEGA* L. SPECIES IN RIGHT-BANK FOREST-SPEPPE OF UKRAINE

Summary
The biochemical composition of overground and underground mass of *Galega officinalis* L., *G. orientalis* Lam. in Right-Bank Forest-Steppe of Ukraine has been investigated. The content of protein (*G. orientalis* –29.42; *G. officinalis* – 30.44 %), ascorbic acid (*G. orientalis* –436.70; *G. officinalis* – 595.12 mg%), carotene (*G. orientalis* – 1.49; *G. officinalis* – 2.07 mg%), lipids (*G. orientalis* – 3.85; *G. officinalis* – 5.06 %) in the overground mass of studing plants in the phase of stooling are found. in underground part of *G. orientalis* are noted the high content of dry matter (55.58 %) in flowering period, ash (44.39 %) in stooling period; in *G. officinalis* – lipids (4.83 %) in flowering period, nitrogen (2.35 %) in stooling period, sugars (7.68 %), phosphorus (0.75 %) and calcium (1.41 %) in budding period.

Key words: *Galega officinalis*, *G. orientalis*, biochemical properties.

ЗООЛОГІЯ

УДК 595.142.33:594.141

Л. М. Янович, к.б.н., доцент
Житомирський державний університет імені Івана Франка,кафедра зоології,
вул. Велика Бердичівська, 40, Житомир, 10008, Україна

ОЛІГОХЕТА *CHAETOGASTER LIMNAEI* BAER, 1827 (ANNELIDA: OLIGOCHAETA: TUBIFICIDAE) – ПАРАЗИТ ПЕРЛІВНИЦЕВИХ (MOLLUSCA: BIVALVIA: UNIONIDAE) З БАСЕЙНУ ДУНАЮ УКРАЇНИ

Вперше зазначено олігохету *Chaetogaster limnaei* Baer, 1827 як паразита перлівницевих України. Олігохету виявлено в гонаді *Sinanodonta woodiana* Lea, 1834 з району м. Вилкове Одеської обл. У *Anodonta anatina* Nilsson, 1822 з цього ж пункту відмічено явище співпаразитування *Ch. limnaei* та трематоди *Rhipidocotyle* campanula (Dujardin, 1845). Види *Unio pictorum* Linnaeus, 1758, *U. tumidus* Philipsson, 1788, *A. cygnea* Linnaeus, 1758, *Pseudanodonta complanata* Rossmässler, 1835 не були інвазовані. Живлячись статевими клітинами перлівницевих, *Ch. limnaei* значно знижує репродуктивний потенціал заражених Unionidae.

Ключові слова: *Chaetogaster limnaei,* Unionidae, інвазія, басейн Дунаю, Україна.

Питання екстенсивності, інтенсивності інвазії паразитами перлівницевих, їх впливу на хазяїна завжди викликали інтерес у дослідників [2, 5, 10–12]. Особливо зросла актуальність таких досліджень в останні роки в умовах загальної деградації прісноводних малакоценозів, стрімкого падіння видової різноманітності, щільності їх поселень.

Вперше зареєстровано олігохету *Chaetogaster limnaei* Baer, 1827 як паразита гонади перлівницевих України. Відповідно метою цієї статті є опис таких знахідок.

Олігохета *Ch. limnaei* добре відома як паразит черевоногих молюсків [3, 8]. Вона оселяється в гепатопанкреасі і живиться його тканиною. Неодноразово цього малощетинкового черва відмічено й на черепашках і в мантійній рідині двостулкових молюсків, зокрема кулькових [10], виду-вселенця *Sinanodonta woodiana* Lea, 1834 [13], *Dreissena polymorpha* Pallas, 1771 [3, 9, 14]. Однак характер його взаємовідносин з цими тваринами до кінця не з'ясовано. Так, зазначалось [4, 16, 18], що *Ch. limnaei* поїдає личинок трематод і таким чином регулює зараженість молюсків. В той же час поблизу локалізації олігохети на тілі *D. polymorpha* було відмічено некроз тканин, також зареєстровано проникнення хетогастера в яєчник дрейсени і живлення там яйцеклітинами [14].

Матеріал та методи

Досліджено молюсків, зібраних на 50 станціях Дунайського річного басейну (табл. 1), в межах всіх річкових басейнів України.

Проводили видову ідентифікацію перлівницевих [1, 7, 15] і паразитичних червів [5, 12, 17]. Стать молюсків визначали за тимчасовими препаратами, для частини особин було проведене детальне гістологічне дослідження гонади. Загалом обстежено 1039 екз. молюсків виду *Unio pictorum* Linnaeus, 1758 – *U. tumidus* Philipsson, 1788, 443 – *U. crassus* Philipsson, 1788, 915 – *Anodonta anatina* Nilsson, 1822,

© Л. М. Янович, 2012

120 – *A. cygnea* Linnaeus, 1758, 84 – *Pseudanodonta complanata* Rossmässler, 1835, 158 – *S. woodiana*.

Таблиця 1

Кількість пунктів збору перлівницевих

Річкові басейни	Кількість пунктів
Дунай	50
Дністер	26
Західний Буг	18
Південний Буг	34
Прип'ять	32
Дніпро	85
Сіверський Донець	15
Водойми Криму	35
Разом	**300**

Результати та обговорення

У молюсків з каналу ПМК (Вилкове Одеської обл.) зафіксовано зараження олігохетою *Ch. limnaei*. Про знаходження цього малощетинкового черва у великій кількості в мантійній порожнині *S. woodiana* з каналу Дунай-Сасик вже повідомлялось раніше [13]. Нами ж вперше відмічено *Ch. limnaei* як паразита гонади нативного виду *A. anatina* та виду-вселенця *S. woodiana* (рис. 1).

Рис. 1. Зовнішній вигляд *Chaetogaster limnaei*.

Дослідження перлівницевих з каналу ПМК проводилось з березня до листопада впродовж 2010–2011 рр. Молюсків, заражених олігохетою, зареєстровано у березні, липні та листопаді. Зараженими виявились лише особини *S. woodiana* та *A. anatina*, види *U. pictorum*, *U. tumidus*, *A. cygnea*, *P. complanata* були вільними від *Ch. limnaei* (табл. 2).

Таблиця 2

Досліджені види молюсків та їх кількість (N) (Вилкове Одеської обл.)

Види	N, екз.	N заражених Ch. limnaei, екз.
U. pictorum	19	0
U. tumidus	21	0
A. anatina	43	2
A. cygnea	3	0
P. complanata	2	0
S. woodiana	78	4

Вид-вселенець *S. woodiana* виявився зараженим олігохетою в березні та листопаді. Так, у березні серед п'яти досліджених особин виду всі виявились гермафродитами. Зараженими *Ch. limnaei* виявились дві особини з переважанням у гонаді ацинусів із чоловічими статевими продуктами. При цьому вогнище інвазії було локальним і мало невеликі розміри. У листопаді серед обстежених п'яти особин *S. woodiana* чотири виявились гермафродитами, одна – самкою. У двох гермафродитів кількість тканини з жіночими статевими продуктами переважала в гонаді. Одна з цих особин мала «зяброву вагітність» – яйцеклітинами було виповнено майже весь об'єм зовнішніх півзябер. Інша, так само, як і самка, мала значно потовщені зовнішні півзябри, що свідчить про недавній «вибій» глохідіїв. Інфікованими *Ch. limnaei* виявились дві тварини – одна з переважанням чоловічої і одна – жіночої (без «зяброва вагітності») тканини в гонаді. В обох молюсків заражено близько ½ гонади.

У всіх випадках заражена ділянка гонади виглядала спустошеною, мала коричнювате забарвлення і добре відрізнялася від решти світло-жовтого кольору статевої залози. У неінфікованих ацинусах нормально дозрівали статеві клітини. Невеликий розмір вогнища інвазії свідчить, ймовірно, про недавнє зараження молюсків олігохетою.

У цьому ж пункті виявлені *A. anatina*, заражені одночасно олігохетою *Ch. limnaei* та трематодою *Rhipidocotyle* campanula (Dujardin, 1845). Трематода *R.* campanula як паразит м'якунів вказувалась неодноразово [5, 6, 10]. Інвазовані беззубки відмічені у березні та червні. Досліджені в березні три особини були самками, при цьому дві з них були неінвазовані, мали «зяброву вагітність» і півзябри були виповнені глохідіями повністю. У третьої – майже вся гонада була уражена співпаразитуючими червами, при цьому глохідіями було заповнено близько третини півзябер.

У червні з двох досліджених *A. anatina* одна також була інфікована трематодою та олігохетою. Зараження охопило майже всю статеву залозу беззубки, в неураженій ділянці дозрівали яйцеклітини.

Висновки

Таким чином, в каналі ПМК (Дунай) виявлено перлівницевих, заражених *Ch. limnaei, Ch. limnaei* і *R.* campanula одночасно. Лише олігохетою *Ch. limnaei* інфіковано *S. woodiana*, у *A. anatina* встановлено явище співпаразитування *R.* campanula та *Ch. limnaei*.

Олігохета *Ch. limnaei*, як і трематоди, оселяється в гонаді. При цьому олігохета живиться статевими клітинами, а трематода, розвиваючись в міжацинарній сполучній тканині, здушує ацинуси і викликає їх руйнування. Все це значно знижує репродуктивний потенціал заражених молюсків.

Список використаної літератури

1. *Васільєва Л. А.* Перлівницеві Unionidae (Bivalvia) фауни України: алозимна й морфологічна мінливість / Васільєва Л. А. : автореф. дис. ... канд. біол. наук : 03.00.08. — НАН України, Інститут зоології ім. І. І. Шмальгаузена, 2011. — 23 с.
2. *Вергун Г. И.* О фауне личинок трематод в моллюсках р. Северского Донца и его пойменных водоемов в районе среднего течения / Г. И. Вергун // Тр. НИИ биологии и биол. фак-та Харьк. ун-та. — 1957. — Т. 30. — С. 147–166.
3. *Верес Ю. К.* Сравнительный анализ зараженности моллюсков озера Нарочь олигохетой *Chaetogaster limnaei* Baer, 1827 / Ю. К. Верес, С. Э. Мастицкий, О. А. Наярович, Т. Юрца // Материалы 6-ой международ. науч. конф. «Сахаровские чтения 2005 года : экологические проблемы XXI века», 18–19 мая 2006 г., Минск. — Мн. : МГЭУ им. А. Д. Сахарова. — Ч. 1. — 2006. — С. 293–295.
4. *Глузман И. Я.* Влияние малощетинкового червя *Chaetogaster limnaei* Baer, 1827 на окаймленных катушек и их зараженность возбудителем лиорхозной инвазии / И. Я. Глузман // Мат. I Всесоюз. симп. по болезням и паразитам водных беспозвоночных. — Львов: Изд-во Львовского ун-та, 1972. — С. 17–19.
5. *Здун В. І.* Личинки трематод в прісноводних молюсках України / В. І. Здун. − К.: Вид-во УРСР, 1961. – 141 с.
6. *Иванцив В. В.* Жизненные цикл *Rhipidocotyle illense* (Trematoda, Bocephalidae) / В. В. Иванцив, М. И. Черногоренко // Вестн. зоологии. — 1984. — № 2. — С. 66–69.
7. *Корнюшин А. В.* О видовом составе пресноводных двустворчатых моллюсков Украины и стратегии их охраны / А. В. Корнюшин // Вестн. зоологии. — 2002. — Т. 36. — Вып. 1. — С. 9–23.
8. *Кудлай О. С. Chaetogaster limnaei* (Annelida: Oligochaeta) — паразит прісноводних молюсків / О. С. Кудлай // Тези доповідей Конференції молодих дослідників-зоологів — 2010 (м. Київ, Інститут зоології НАН України, 20–21.04 2010 р.). — Київ, 2010. — С. 30.
9. *Мастицкий С. Э.* Дрейссена как источник эхиностоматозов водоплавающих птиц Комсомольского озера (Беларусь) / С. Э. Мастицкий, Г. Г. Вежновец // Тез. XII междунар. конф. молодых ученых «Биология внутренних вод: проблемы экологии и биоразнообразия», п. Борок (Россия), 23–36 сентября 2002 г. — Борок, 2002. — С. 82–83.
10. *Стадниченко А. П.* Перлівницеві. Кулькові (Unionidae, Cycladidae) / Стадниченко А. П. — К.: Наук. думка, 1984. — 384 с. — (Фауна України; Том 29: Молюски; вип. 9).
11. Цееб Я. Я. Зоогеографический очерк и история Крымской гидрофауны // Ученые записки Орлов. гос. пед. ин-та естествознания и химии. — 1947. — Вып. 2. — С. 67–112.
12. *Черногоренко М. И.* Личинки трематод в моллюсках Днепра и его водохранилищ / М. И. Черногоренко. − К.: Наук. думка, 1983. – 201 с.

13. *Юришинец В. И.* Симбионты некоторых чужеродных видов пресноводных рыб и моллюсков водоемов Дуная и Днепра / В. И. Юришинец // Российский Журнал Биологических Инвазий. — 2010. — № 1. — С. 37–43.
14. *Conn D. B. Chaetogaster limnaei* (Annelida: Oligochaeta) as a parasite of zebra mussel *Dreissena polymorpha*, and the quagga mussel *Dreissena bugensis* (Mollusca: Bivalvia) / D. B. Conn, A. Ricciardi., N. B. Mohan, K. A. Klein, D. A. Rosen // Parasitol. Res. — 1996. — Vol. 82 — P. 1–7.
15. *Glöer P.* Süsswassermollusken / P. Glöer, C. Meier-Brook. — Hamburg : DJN, 1998. — 136 s.
16. *Ibrahim M. M.* Population dynamics of *Chaetogaster limnaei* (Oligochaeta: Naididae) in the field populations of freshwater snails and its implications as a potential regulator of trematode larvae community / M. M. Ibrahim // Parasitology research. — Vol. 101, N. 1, — P. 25–33.
17. *Michaelsen W.* Das Tierreich 10: Vermes, Oligochaeta // W. Michaelsen. — Friedländer & Sohn, Berlin. — 1900. — S. 22.
18. *Rodgers J. K.* Multi-species interactions among a commensal (*Chaetogaster limnaei limnaei*), a parasite (*Schistosoma mansoni*), and an aquatic snail host (*Biomphalaria glabrata*) / J. K. Rodgers, G. J. Sandland, S. R. Joyce, D. J. Minchella. // Journal of Parasitology. — 2005. — Vol. 91. — P. 709–712.

Стаття надійшла до редакції 9.05.2012

Л. Н. Янович
Житомирский государственный университет имени Ивана Франко,
кафедра зоологии,
ул. Большая Бердичевская, 40, Житомир, 10008, Украина

ОЛИГОХЕТА *CHAETOGASTER LIMNAEI* BAER, 1827 (ANNELIDA: OLIGOCHAETA: TUBIFICIDAE) – ПАРАЗИТ ПЕРЛОВИЦЕВЫХ (MOLLUSCA: BIVALVIA: UNIONIDAE) ИЗ БАССЕЙНА ДУНАЯ УКРАИНЫ

Резюме
Впервые отмечено олигохету *Chaetogaster limnaei* Baer, 1827 как паразита перловицевых Украины. Олигохета выявлена в гонаде *Sinanodonta woodiana* Lea, 1834 из района Вилково Одесской обл. В *Anodonta anatina* Nilsson, 1822 из этого же пункта зарегистрировано явление сопаразитирования *Ch. limnaei* и трематоды *Rhipidocotyle* campanula (Dujardin, 1845). Виды *Unio pictorum* Linnaeus, 1758, *U. tumidus* Philipsson, 1788, *A. cygnea* Linnaeus, 1758, *Pseudanodonta complanata* Rossmässler, 1835 были неинвазированы. Питаясь половыми клетками перловицевых, *Ch. limnaei* значительно снижает репродуктивный потенциал зараженных Unionidae.

Ключевые слова: *Chaetogaster limnaei,* Unionidae, инвазия, бассейн Дуная, Украина.

L. M. Yanovich
Ivan Franko Zhytomyr State University, department of zoology,
40, V. Berdychivska Str., Zhytomyr 10008, Ukraine

OLIGOCHAETA *CHAETOGASTER LIMNAEI* BAER, 1827 (ANNELIDA: OLIGOCHAETA: TUBIFICIDAE) IS PARASITE UNIONIDS (MOLLUSCA: BIVALVIA: UNIONIDAE) FROM POOL OF THE DANUBE OF UKRAINE

Summary
Oligochaeta *Chaetogaster limnaei* Baer, 1827 as a parasite of unionids Ukraine is first marked for the first time. Oligochaeta in gonade of *Sinanodonta woodiana* Lea, 1834 in the region Vilkovo of Odessa region is exposed. In *Anodonta anatina* Nilsson, 1822 from the same point the phenomenon of coparasitism *Ch. limnaei* and trematody of *Rhipidocotyle campanula* (Dujardin, 1845) is registered. *Unio pictorum* Linnaeus, 1758, *U. tumidus* Philipsson, 1788, *A. cygnea* Linnaeus, 1758, *Pseudanodonta complanata* Rossmässler, 1835 in that channel were uninfected. Feeding by the gametes of unionids, *Ch. limnaei* reduces reproduction potential of infected Unionidae considerably.

Key words: *Chaetogaster limnaei*, Unionidae, parasitization, drainage of the Danube, Ukraine.

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН

УДК 577.127.3: 616.036.12

Л. М. Карпов, д.б.н., профессор,
О. Д. Павличенко, старший преподаватель,
О. Н. Ершова, к.б.н., старший научный сотрудник,
С. Г. Каракис, старший научный сотрудник,
А. В. Майкова, к.б.н, доцент,
А. Г. Драгоева, младший научный сотрудник,
Т. И. Лавренюк, младший научный сотрудник,
В. А. Сагариц, младший научный сотрудник,
Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,
кафедра физиологии человека и животных,
ул. Дворянская 2, Одесса 65082, Украина, e-mail: lmkarpov@onu.edu.ua

ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИОННОГО ДЕЙСТВИЯ СПИРУЛИНЫ И ЕЕ МУТАНТНЫХ ШТАММОВ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

Установлено адаптогенное действие спирулины дикого типа и ее мутантных штаммов 198B и 27G на фоне хронического стресса. Показано, что процедура интрагастрального введения крысам физиологического раствора вызывает состояние стресса и, как следствие, увеличение количества β-липопротеинов, усиление перекисного окисления липидов (ПОЛ). Интрагастральное введение крысам спирулины снижает интенсивность ПОЛ и уровень β-липопротеинов, что свидетельствует об адаптационных возможностях спирулины для организма.

Ключевые слова: спирулина, стресс, ПОЛ, общий белок, холестерин, β-липопротеины, крысы.

В настоящее время на фоне возросших нервно-эмоциональных перегрузок, напряженной экологической ситуации, изменений питания у населения все чаще возникают симптомы адаптационной недостаточности, снижения неспецифической резистентности организма к неблагоприятным факторам окружающей среды – физической, химической и биологической природы. Вполне вероятно, что именно с этим связан рост таких хронических заболеваний, как атеросклероз, сердечно-сосудистые, онкологические заболевания, диабет и др. [9]. Одной из основных причин снижения адаптации является недостаточная обеспеченность организма, прежде всего биологически активными веществами, которые необходимы для нормального функционирования системы антиоксидантной защиты, определяющей адаптационный потенциал организма [2]. В связи с этим особую актуальность приобретают вопросы его повышения и поиск эффективных и безопасных адаптогенов. Среди веществ природного происхождения с такими свойствами большое внимание привлекает микроводоросль спирулина (*Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis*), обладающая исключительно высокой пищевой ценностью. Наряду с высоким (до 62 % на сухой вес) содержанием биологически полноценного белка она включает почти полный спектр каротиноидов, значительные количества витаминов группы В, витамин Е, эссенциальную гамма-линоленовую кислоту, целый ряд микроэлементов [10]. Учитывая потенциальные возможности природных штаммов спирулины, в лаборатории селекционно-генетическим путем были получены новые штаммы *Spirulina platensis* – 27G и 198B, которые

© Л. М. Карпов, О. Д. Павличенко, О. Н. Ершова, С. Г. Каракис, А. В. Майкова, А. Г. Драгоева, Т. И. Лавренюк, В. А. Сагариц, 2012

в отличие от дикого штамма характеризуются повышенным содержанием компонентов с антиоксидантным действием: с-фикоцианина, алофикоцианина, каротиноидов, хлорофилла «а», серусодержащих аминокислот, фенилаланина [4]. Антиоксидантные свойства штаммов спирулины 27G и 198B в сравнении со штаммом дикого типа (ДТ) были изучены ранее в тканях сердца и эритроцитах крыс на модели хронического стресса [5].

Цель данного исследования: изучить адаптогенное влияние спирулины дикого типа и ее мутантных штаммов 198B и 27G на интенсивность ПОЛ, белковый и липидный обмен при хроническом стрессе у крыс.

Материалы и методы исследования

Опыт проводили на белых нелинейных крысах-самцах, возрастом около 3 месяцев, с исходной массой тела 200–270 г, содержащихся на стандартном рационе вивария. Животные были разделены на 5 групп по 8 крыс в каждой. Первую группу (контроль 1) составили интактные животные. Животным второй группы (контроль 2) с помощью зонда ежедневно вводили в желудок по 2 мл физиологического раствора в течение 14 суток. Опытные группы (3-я, 4-я и 5-я) составляли животные, получавшие таким же способом в течение 14 дней штаммы спирулины в дозе 250 мг/кг массы тела в виде суспензии в физиологическом растворе в объеме 2 мл. Крысам второй группы вводили спирулину дикого типа (*Spirulina platensis*), животные 4-й и 5-й групп получали мутантные штаммы 198B и 27G соответственно. Массу тела животных определяли каждые 7 дней. Через 14 суток животных декапитировали под хлороформным наркозом с соблюдением норм биологической этики при экспериментальной работе с животными. Гомогенаты органов готовили, как описано ранее [7].

Кровь центрифугировали при 1500 об/мин в течение 20 минут. Содержание общего холестерина в сыворотке крови определяли по реакции с уксусным ангидридом (метод Илька), β-липопротеинов - турбидиметрическим методом (по Бурштейну и Самай), общего белка – по реакции с сернокислой медью в щелочной среде (биуретовая реакция) [6]. Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли в кислой среде по реакции его взаимодействия с тиобарбитуровой кислотой с образованием триметилового комплекса с максимумом поглощения при λ 532 нм [11].

В работе использовали альгологически чистую культуру *Spirulina platensis Gom. Geitl* (штамм *Moyse*), а также мутантные штаммы 27G с повышенным содержание фикоцианина и 198B с повышенным содержанием β-каротина. Мутантные штаммы получены в лаборатории цианобактерий ОНУ имени И. И. Мечникова [4].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью стандартных статистических программ «Microsoft Excel» для Windows-2007.

Результаты исследования

Прирост массы тела является важным показателем благополучия физиологического состояния у молодых животных. Изменения массы тела у крыс всех групп представлены на рис. 1. Животные интактной группы, которые ежедневно получали стандартное питание вивария, интенсивно росли в течение эксперимента.

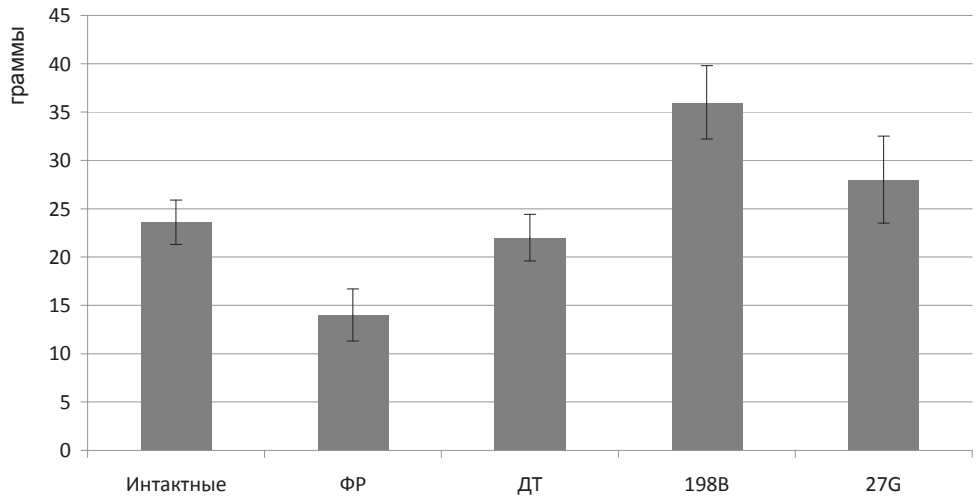

Рис.1. Прирост массы животных (г) за 14 дней эксперимента

Так, уже на 14-е сутки их масса превышала исходную на 9,6 %. Крысы, которым вводили физиологический раствор, изменяли свою массу тела медленнее: через 14 суток их вес увеличился только на 5,6 %, что было достоверно ($P < 0,05$) меньше относительно привеса интактных животных. Введение спирулины ДТ, ее штаммов 27G и 198В сопровождалось значительным ускорением роста животных: к 14-м суткам эксперимента их вес увеличился на 9,5 % , 15,7 % и 17,0 % соответственно. Прирост массы животных этих групп достоверно ($P < 0,05$) отличался от 2-й группы. Кроме того, средние значения привеса животных на 6,25 % и 7,5 % выше в группах, получавших спирулину штаммов 27G и 198В соответственно, чем в группе, получавшей ДТ. Учитывая тот факт, что исследуемые штаммы спирулины составляли около 0,1 % от основной пищи, можно предположить, что прием спирулины способствует лучшему усвоению питательных веществ из основной пищи и в большей степени этому способствуют штаммы 198В и 27G.

Общее состояние и поведение крыс, получавших спирулину, не отличались от интактных животных. Животные были активны, рефлексы живые, прием воды и пищи без особенностей, естественные отправления не нарушены. Таким образом, в условиях двухнедельного введения спирулины через зонд состояние центральной нервной системы было в пределах физиологической нормы.

Было установлено, что в норме общий белок в сыворотке крови крыс интактной группы составил 91,30 г/л (табл. 1).

В сыворотке крови крыс 2-й группы наблюдалась тенденция к уменьшению количества белка на 7 % по сравнению с интактной группой. У крыс, принимавших штаммы спирулины 198В и 27G, отмечена тенденция к увеличению содержания общего белка в плазме крови на 11,6 % и 10,2 % соответственно по сравнению со 2-й группой животных.

Таблица 1

Показатели белкового и липидного обмена сыворотки крови крыс на фоне введения различных штаммов спирулины (M±m, n=8)

Показатели	Интактные (контроль1)	ФР (контроль 2)	Дикий тип	198B	27G
Общий белок, г/л	91, 30±5,31	85,00±6,93	88,14±8,59	94,86±4,86	93,71±9,81
Общий холестерин, ммоль /л	1,57±0,06	1,61±0,08	1,56±0,02	1,54±0,02	1,54±0,07
β-липопротеины, мг/100мл	15,76±0,37	18,75±0,95**	14,52±0,85*	14,19±1,06*	14,35±1,09*

Примечание: * - P < 0,01 по сравнению с контролем 2;
** - P < 0,01 по сравнению с контролем 1

У животных 1-й и 2-й групп содержание общего холестерина в сыворотке крови было в пределах физиологической нормы. Введение в рацион различных штаммов спирулины существенным образом не влияло на показатели общего холестерина, которые достоверно не отличались от соответствующих показателей интактных крыс.

Уровень β-липопротеинов в крови крыс 2-й группы был достоверно (P < 0,01) выше на 18,9 % по сравнению с интактной группой. Введение штаммов спирулины способствовало снижению концентрации β-липопротеинов относительно 2-й группы в среднем на 23,46±0,86 % при достоверности (P < 0,01).

В результате проведенных исследований не выявлено достоверных изменений показателей белкового обмена. Известно, что все виды стресса требуют срочной мобилизации белка для покрытия энергетических нужд организма [14]. Поэтому даже тенденция к увеличению содержания общего белка после введения спирулины может быть значимой и отражать позитивное влияние ее мутантных штаммов на функциональное состояние гепатоцитов. Позитивный эффект на белоксинтезирующую функцию печени, по-видимому, связан с тем, что аминокислотный состав белка спирулины хорошо сбалансирован, а витамины группы В, которые необходимы для усвоения аминокислот и регуляции их обмена, находятся у нее в физиологически сбалансированном количестве [10].

Известно, что стресс может вызывать проатерогенные нарушения липидного спектра [12]. У крыс, получавших с помощью зонда физиологический раствор, выявлено достоверное увеличение β-липопротеинов, которые относятся к классу липопротеинов крови, который является наиболее атерогенным [3]. Достоверное снижение β-липопротеинов после введения различных штаммов спирулины очевидно отражает антиатерогенные свойства микроводорослей за счет вхождения в их состав витаминов B_6 и B_{12}, ненасыщенной гамма-линоленовой кислоты, влияющих на обмен липидов. Бета-липопротеины являются основной транспортной формой холестерина и в своем составе в норме содержат до 65 % холестерина, который преобладает над другими типами липидов в данном классе липопротеинов. Известно, что показатель бета-холестерин больше коррелирует с риском атеросклероза, чем уровень общего холестерина, поскольку именно эта фракция обеспечивает приток холестерина к сосудам и органам [3]. Липопротеины определяют

уровень холестерина и динамику его обмена. Выявленные незначительные изменения содержания общего холестерина в сыворотке крови по сравнению со статистически значимым уменьшением концентрации β-липопротеинов, очевидно, связано с изменением соотношения фракций α- и β-липопротеинов, так как согласно литературным данным, спирулина вызывает повышение α-холестерина [13].

Учитывая, что исследованные биохимические показатели крови характеризуют состояние метаболических процессов в первую очередь в печени, можно сделать вывод о том, что мутантные штаммы спирулины оказывали положительное влияния на белоксинтезирующую функцию и вызывали выраженный гиполипидемический эффект.

Одним из возможных компонентов быстрой реакции на стресс является активация ПОЛ. Известно, что в нормальных условиях жизнедеятельности клетки постоянно присутствует определенный уровень ПОЛ, индуцированный образованием активных форм кислорода, который поддерживается благодаря многоуровневой антиоксидантной системе защиты [1]. Исследование процесса ПОЛ показало (рис. 2), что в результате процедуры введения экспериментальным животным ФР при помощи зонда повышалось количество одного из конечных продуктов ПОЛ – МДА в печени, почках и мозге крыс в 1,7, 1,5 и 1,3 раза соответственно, что говорит об усилении свободно-радикального процесса. Следовательно, можно предположить, что сама процедура введения зонда животным является стрессогенной (рис. 2).

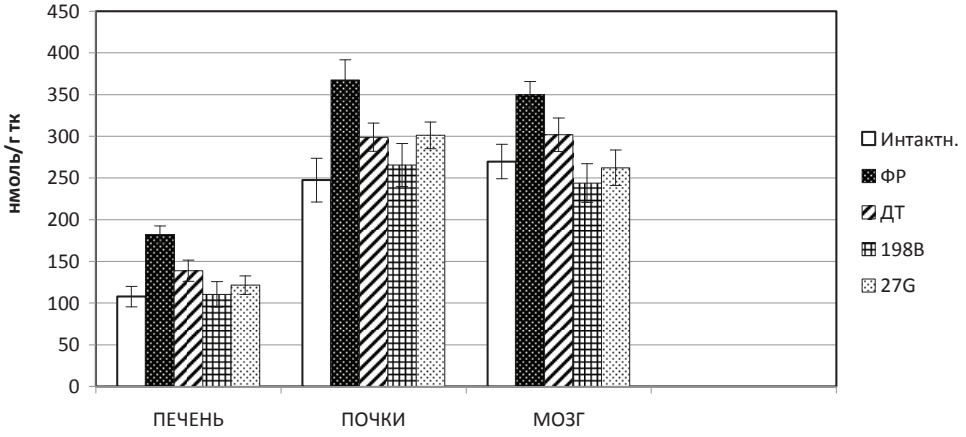

Рис.2. Содержание малонового диальдегида в печени, почках и мозге крыс на фоне хронического стресса и приема штаммов спирулины

Полученные результаты свидетельствуют о том, что происходит смещение равновесия между прооксидантной и антиоксидантной системами в сторону усиления образования свободных радикалов, что в свою очередь приводит к разрушению клеточных мембран и их проницаемости [17]. В то же время сохранение барьерных свойств биомембран является необходимым условием нормального функционирования отдельных органелл, особенно в экстремальных условиях.

Введение ДТ спирулины и его мутантных штаммов 198B и 27G при помощи зонда приводило к снижению количества МДА во всех исследуемых органах. Однако, мутантные штаммы 198B и 27G более эффективно подавляли интенсивность ПОЛ. Во всех исследуемых органах интрагастральное введение штамма 198B снижало количество образования МДА: в 1,7 раза – в печени, в 1,4 раза – в почках и мозге, приближая показатели к исходным значениям.

Таким образом, установлено, что на фоне хронического стресса спирулина ДТ и ее мутантные штаммы 198B и 27G подавляли интенсивность ПОЛ. Вероятно, антиоксидантное действие спирулины обусловлено содержащимися фикобилипротеинами (с-фикоцианин и аллофикоцианин), β-каротином, фенольными кислотами, токоферолами, сульфатированными полисахаридами [8, 15]. Согласно литературным данным [16], основным антиоксидантом является фикобилипротеин с-фикоцианин, который способен обезвреживать алкоксильные, гидроксильные, пероксильные радикалы. Наиболее выражены антиоксидантные свойства у мутантных штаммов 198B и 27G, что, вероятнее всего, связано с повышенным содержанием фикобилипротеинов и метионина, а у штамма 198B - еще и с повышенным содержанием β-каротинов.

Выводы

1. При хроническом стрессе у белых крыс наблюдалось повышение интенсивности ПОЛ, увеличение содержания β-липопротеинов.
2. Интрагастральное введение спирулины ДТ и ее мутантные штаммов 198B и 27G на фоне хронического стресса нормализовали липидный спектр крови, подавляли свободнорадикальный процесс.
3. Наиболее выраженное снижение содержания МДА в тканях печени, сердца, почек наблюдалось под действием мутантного штамма 198B.

Список использованной литературы

1. *Барабой В. А.* Механизмы стресса и перекисное окисление липидов / В. А. Барабой // Успехи современной биологии. 1991. — Т. 111, вып. 6. — С. 923–932.
2. *Гурин И. С.* Биологически активные вещества гидробионтов – источник новых лекарств и препаратов / И. С. Гурин, И. С. Антихин. — М.: Наука, 1989. — 230 с.
3. *Джанашия П. Х.* Дислипопротеидемии: клиника, диагностика, лечение / П. Х. Джанашия, В. А. Назаренко, С. А. Николенко — М.: Рос. гос. мед. ун-т, 2000. — 137 с.
4. *Каракіс С. Г.* Селекція мутантних штамів *Spirulina platensis* з підвищенним вмістом метіоніну в біомасі / С. Г. Каракіс, О. Г. Драгоєва, Т. І. Лавренюк та ін. // Вісник Одеського національного університету. — 2005. — Т. 10, вип. 3. — С. 55–62.
5. *Карпов Л. М.* Дія різних штамів спіруліни на деякі показники антиоксидантного захисту у щурів / Л. М. Карпов, О. М. Єршова, С. Г. Каракіс // Природничий альманах. Біологічні науки. — 2009. випуск 13. — С. 50–56.
6. *Лабораторные* методы исследования в клинике: справочник / Под. ред В. В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 368 с.
7. *Методы* биохимических исследований (липидный и энергетический обмен): учеб. пособие / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л.: Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. — С. 30–31, 163–164, 181–183.

8. *Овсянникова Т. Н.* Состав и антиоксидантная активность комплекса биополимеров из *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. / Т. Н. Овсянникова, Н. Г. Миронова, В. Н. Заболотны и др. // Альгология. — 1998. — Т. 8, № 1. — С. 75–81.
9. *Пилат Т. Л.* Способы коррекции питания при различных заболеваниях. Диагностика и терапия в клинике внутренних болезней // Вестник восстановительной медицині. — 2003 — № 4. — С. 41–45.
10. *Спирулина* – пища XXI века / Под. ред. С. А. Кедика. – М.: Фарма Центр, 2010. — 166 с.
11. *Стальная Д. И.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Д. И. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Сб. Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С. 66–68.
12. *Хомуло П. С.* Эмоциональное напряжение и атеросклероз. — Л.: Медицина, 1982.— 151 с.
13. *Чернова Н. И.* Пищевая ценность спирулины: опыт выращивания и применения / Н. И. Чернова, С. В. Киселева, Н. М. Чернов // Вест. РАСХН. 2001. — № 6. — С. 60–63.
14. *Якубке Х. Ф.* Аминокислоты, пептиды, белки. — М.: Наука, 1985. — 340 с.
15. *Miranda M. S.* Antioxidant activity of the microalgae Spirulina maxima / M. S. Miranda, R. C. Cintra, S. B. Barros et al. // Braz J Med Biol Res. — 1998. — Vol. 31(8). — P. 1075–1079.
16. *Pinero Estrado J. E.* Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract / J. E. Pinero Estrado, P. Bermejo Bescos, A. M. Villar del Frasno // Farmaco. — 2001. — Vol. 56 (5–7). — P. 497–500.
17. *Rirutto R.* Effect of Ca^{2+}, peroxides, SH-reagents, phosphate and agin on the permeability of mitochondrial membranes / R. Rirutto, G. Pitton, G. F. Azzone // Eur. J. Biochem. — 1987. — 162. — № 2. — P. 239–249.

Статья поступила в редакцию 10.09.2012

Л. М. Карпов, О. Д. Павліченко, О. М. Єршова, С. Г. Каракіс, Г. В. Майкова, А. Г. Драгоєва, Т. І. Лавренюк, В. А. Сагаріц
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
кафедра фізіології людини та тварин,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна

ОСОБЛИВОСТІ АДАПТАЦІЙНОЇ ДІЇ СПІРУЛІНИ І ЇЇ МУТАНТНИХ ШТАМІВ В УМОВАХ СТРЕСУ

Резюме
Встановлена адаптогенна дія дикого штаму спіруліни і його мутантних штамів 198B і 27G на тлі хронічного стресу. Показано, що процедура інтрагастрального введення щурам фізіологічного розчину викликає стан стресу і, як наслідок, посилення перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і підвищення вмісту β-ліпопротеїнів. Інтрагастральне введення щурам різних штамів спіруліни різною мірою знижує інтенсивність ПОЛ і рівень β-ліпопротеїнів, що свідчить про адаптаційні можливості спіруліни для організму.

Ключові слова : спіруліна, стрес, ПОЛ, холестерин, β-ліпопротеїни, щури.

L. M. Karpov, O. D. Pavlichenko, O. N. Ershova, S. G. Karakis, A. V. Maykova, A. G. Dragoeva , T. I. Lavrenyuk, V. A. Sagarits
Odesa National Mechnykov I. I. University, Department of Biochemistry,
2, Dvoryanska Str., Odesa, 65082, Ukraine

THE ADAPTATION OF SPIRULINA FEATURES AND ITS MUTANT STRAINS IN STRESS CONDITIONS

Summary
There were established the adaptogenic effect of spirulina of wild-type and its mutant strains 198V and 27G on the background of chronic stress. There were shown that intragastric injection procedure of to rats of physiological salution causes the state of stress and, consequently, it increases the number of β-lipoprotein and increases lipid peroxidation. Intragastric injection of spirulina biomass to the rats reduces the intensity of lipid peroxidation and the level of β-lipoprotein, that which indicates the possibilities of adaptation for the body of spirulina.

Key words: spirulina, stress, lipid peroxidation, total protein, cholesterol, β-lipoproteins, rats.

ОГЛЯДИ

Т. В. Васильєва, к.б.н., доц. кафедри ботаніки
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра ботаніки,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: tvas@ukr.net

ВІРА ВІКТОРІВНА ПРОТОПОПОВА: ОСНОВНІ ВІХИ НАУКОВО-ПЕДАГОГІЧНОЇ ДІЯЛЬНОСТІ

Окреслено основні напрямки наукової діяльності відомого флориста, систематика, фітогеографа, популяризатора ботанічних знань, почесного члена Українського ботанічного товариства, лауреата премії НАН України, доктора біологічних наук, професора Віри Вікторівни Протопопової за 55 років наукової, педагогічної та громадської діяльності.

Ключові слова: В. В. Протопопова, доктор біологічних наук, флорист, фітогеограф.

2 березня 2013 р. виповнюється 80 років від дня народження і 55 років наукової, педагогічної та громадської діяльності видатного ботаніка України, визнаного флориста, систематика, фітогеографа, популяризатора ботанічних знань, почесного члена Українського ботанічного товариства, лауреата премії Національної академії наук України імені М. Г. Холодного, доктора біологічних наук, професора, провідного наукового співробітника Інституту ботаніки імені М. Г. Холодного НАН України, прекрасної та чуйної людини Віри Вікторівни Протопопової.

З її ім'ям в українській ботаніці пов'язаний передусім такий науковий напрямок, як синантропна флористика. Серед ботаніків В. В. Протопопова відома також як авторитетний дослідник складних і своєрідних груп рослин, якими є папороті й орхідеї, автор яскравих науково-популярних нарисів про рослинний світ України.

Перші знання й навички як ботанік вона набувала на біологічному факультеті Київського державного університету імені Т. Г. Шевченка, коли там працювали видатні ботаніки Д. К. Зеров та О. В. Топачевський, зоолог О. П. Маркевич, біохімік Д. Л. Фердман, мікробіолог Л. О. Рубенчик, а особливо – професор ботаніки О. Л. Липа.

Починаючи з 1958 року й дотепер, наукова діяльність Віри Вікторівни Протопопової пов'язана з відділом систематики та флористики судинних рослин Інституту ботаніки імені М. Г. Холодного НАН України. Тут В. В. Протопопова пройшла шлях від старшого лаборанта до провідного наукового співробітника.

У 1966 році В. В. Протопопова успішно захистила кандидатську дисертаційну роботу: «Адвентивні рослини Лісостепу і Степу». Дисертація В. В. Протопопової – перше в Україні глибоке й багатогранне дослідження видів адвентивних рослин, яке торкалося не тільки практичних питань (боротьба з бур'янами), але й,

© Т. В. Васильєва, 2012

передусім, теоретичних – історичних аспектів розселення адвентивних рослин у нових регіонах, формування їхніх вторинних ареалів, взаємодії з місцевою флорою. Розвиваючи цей напрямок досліджень, В. В. Протопопова здійснила численні експедиції в різні регіони України, на Кавказ, у Центральну Росію, зібрала численний гербарний матеріал, що став основою порівняльно-флористичних досліджень. Проаналізовані й узагальнені матеріали склали базис її докторської дисертаційної роботи «Синантропная флора Украины», яку вона блискуче захистила в 1989 році. Головні положення дисертації стали основою тепер уже класичної й рідкісної монографії «Синантропная флора Украины и пути ее развития», опублікованої в 1991 році. Встановлені нею закономірності формування та розвитку синантропної, у тому числі й адвентивної, фракції флори дозволили з'ясувати, що дана флора розвивається за певними законами й відрізняється від регіональної флори за всіма основними параметрами, які характеризуються певною спрямованістю та визначають тенденції розвитку регіональних флор адекватно до впливу антропогенного фактора і викликаних ним різких змін навколишнього середовища. Вона запропонувала оригінальне трактування походження деяких вузько локальних ендемічних видів від археофітів, що відкриває новий аспект у вивченні ендемізму у флорах антропогенно перетворених територій. В. В. Протопопова висловила припущення про те, що еволюція видів адвентивних рослин у межах вторинних ареалів відбувається шляхом квантового, гібридного й аллополіплоїдного видоутворення з наступним відокремленням симпатричних і маргінально-симпатричних рас. Вона встановила загальну спрямованість синантропізації й модернізації флори України та розробила класифікацію видів адвентивних рослин на еколого-географічній основі, котру можна використовувати як додатковий критерій оцінки цих явищ в окремих регіонах. Викладені у даній праці теоретичні й методологічні розробки визначили перспективу подальшого розвитку всіх досліджень синантропної фракції флори в Україні, стали загальновизнаними, набули практичного застосування.

Наприкінці 90-х років минулого століття В. В. Протопопова, продовжуючи вибраний напрямок досліджень, розпочинає вивчення ще одного аспекту проблеми синантропізації флори – інвазій видів неаборигенних рослин. Спільно зі своїми колегами вона розробила проект національної стратегії контролю за інвазіями видів неаборигенних організмів в Україні. В розробленому проекті подано оцінку сучасного стану фітоінвазій, тенденції динаміки, визначені загрози впливу видів неаборигенних організмів на довкілля, висловлені пропозиції до проекту національної стратегії контролю за неаборигенними організмами (Протопопова, Мосякін, Шевера, 2002).

В. В. Протопопова й дотепер залишається провідним фахівцем і головним консультантом в Україні з проблеми неаборигенних інвазійних рослин, визначення оцінки їхнього впливу на довкілля. Вона здійснила критико-таксономічний і еколого-географічний аналізи цілої низки таксонів флори України, причому часто була єдиним фахівцем в Україні з тієї чи іншої групи рослин. Результати аналізу таких складних у систематичному відношенні груп рослин, як Lycopodiophyta, Equisetophyta, Polypodiophyta, Amaranthaceae, Oxalidaceae, Orchidaceae, а також окремі роди родини Asteraceae (Bidens L., Galinsoga L., Helianthus L., Xanthium L. та інші), опубліковані в багатьох відомих флористичних працях. В. В. Протопопова є автором та співавтором більше 250 наукових праць.

До числа наукових інтересів В. В. Протопопової входять також проблеми охорони рослинного світу. За її безпосередньої участі розроблені також принципи

збереження біорізноманіття на сільськогосподарських землях за допомогою оптимізації ландшафтів. Разом із колегами вона брала участь у розробці наукового обґрунтування потреби у створенні ряду природно-заповідних об'єктів Північно-Західного Причорномор'я. Велику увагу вона приділяла і приділяє пропаганді необхідності охорони рослинного світу. В. В. Протопопова – один із активних авторів і учасник робіт, які проводилися при підготовці трьох видань Червоної книги України.

Окремою пристрастю наукових досліджень В. В. Протопопової стали представники родини Orchidaceae та відділу Polypodiophyta. Вагомим є її внесок у справу вивчення та охорони генофонду рідкісних видів орхідних та папоротей. Віра Вікторівна Протопопова не шкодує добрих слів для молодих дослідників, які часто звертаються до неї за порадою, щиро ділиться з ними своїми ідеями та думками.

Професор В. В. Протопопова щедро передає свої здобутки учням. Під її науковим керівництвом захищено три кандидатські дисертації: Т. В. Васильєвою–Немерцаловою (1996), І. А. Тимченко (1996), І. В. Ковтун (2004). Високий професіоналізм, любов до ботаніки та рідної природи в поєднанні з неабияким поетичним талантом і художнім баченням навколишнього світу відобразилися у цілій низці науково-популярних праць В. В. Протопопової, написаних спільно з Т. Л. Андрієнко, Б. В. Заверухою, С. С. Морозюк, Л. С. Пановою.

В. В. Протопопова бере участь у науково-організаційній роботі: вона була членом ботанічної секції Національної комісії з питань Червоної книги України, редакційної колегії «Українського ботанічного журналу», спеціалізованої ради по захисту докторських дисертацій Інституту ботаніки імені М. Г. Холодного НАН України, головою секції історії науки Українського ботанічного товариства, входила до складу оргкомітетів багатьох міжнародних і вітчизняних наукових конференцій та нарад із проблем вивчення синантропної флори, урбанофлор, систематики орхідей, вона є членом спеціалізованої вченої ради по захисту докторських дисертацій Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка НАН України.

А ще – Віра Вікторівна надзвичайно відповідальна людина. Завжди і в усьому. Інтелігентна, доброзичлива, працьовита, принципова, з гострим почуттям гумору. Свій ювілей Віра Вікторівна Протопопова зустрічає у розквіті творчих сил, сповнена новими ідеями і творчими задумами.

Ми вітаємо нашу дорогу і глибоко шановану Віру Вікторівну Протопопову і зичимо їй міцного здоров'я, довголіття, здійснення мрій, виповнення бажань, натхнення, творчих звершень.

Т. В. Васильева
Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова, кафедра ботаники, ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина, e-mail: tvas@ukr.net

ВЕРА ВИКТОРОВНА ПРОТОПОПОВА: ОСНОВНЫЕ ВЕХИ НАУЧНО-ПЕДАГОГИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Резюме
Представлены основные направления научной деятельности известного флориста, систематика, фитогеографа, популяризатора ботанических знаний, почетного члена Украинского ботанического общества, лауреата премии НАН Украины, доктора биологических наук, профессора Веры Викторовны Протопоповой за 55 лет научной, педагогической и общественной деятельности.

Ключевые слова: В. В. Протопопова, доктор биологических наук, флорист, фитогеограф.

T. V. Vasylyeva
Odesa National Mechnykov University, Department of Botany,
2, Dvoryanska Str., Odesa, 65082, Ukraine, e-mail: tvas@ukr.net

VIRA VIKTORIVNA PROTOPOPOVA: FUNDAMENTAL STAKES OF SCIENTIFIC AND PEDAGOGICAL ACTIVITY

Summary
It is indicated the main scientific directions of famous scientist in flora, taxonomy, plant geography, popularization of botanical knowledge, honorary member of Ukrainian Botanical Society, laureate of NAS Ukraine premium, doctor of biological science, professor Vira Viktorivna Protopopova during 55 years of scientific, pedagogical and public work.

Key words: V. V. Protopopova, the doctor of biological sciences, scientist in flora, plant geography.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ

1. ПРОФІЛЬ ЖУРНАЛУ

1.1. «Вісник Одеського національного університету» (серія «Біологія») здійснює такі публікації:

1. Наукові статті
2. Короткі повідомлення
3. Бібліографія.
4. Матеріали конференцій.
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, російська, англійська)

1.4. До редакції «Вісника...» подається відредагований і погоджений з редколегією текст статті, записаної на електронному носії у форматі *.doc (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), набраний без застосування функції «Розстановка переносів» та два екземпляри «роздруківки» з неї.

Резюме двома додатковими мовами (зразок оформлення публікації наведено наприкінці Правил).

Колонтитул

Рекомендація кафедри або наукової установи до друку

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

2.5. Висновки

2.6. Список літератури

2.7. Анотація (мовою оригіналу статті) і резюме

2.8. Ключові слова

2.9. Колонтитул

3. ОФОРМЛЕННЯ РУКОПИСУ, ОБСЯГ. ПОСЛІДОВНІСТЬ ТА РОЗТАШУВАННЯ ОБОВ'ЯЗКОВИХ СКЛАДОВИХ СТАТТІ

3.1. Обсяг рукопису наукової статті (з урахуванням малюнків, таблиць і підписів до них. анотацій, резюме, списку літератури) — 8 — 12 сторінок друкованого тексту, оглядів — до 20 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.
8. Далі йде текст статті, список літератури.
9. Таблиці та малюнки разом з підписами та необхідними поясненнями до них розміщуються у тексті статті.
10. На окремому аркуші подаються резюме (російською та англійською мовами для україномовних статей: українською та англійською — для російськомовних), оформлених таким чином: прізвище та ініціали автора (авторів), назва наукової установи, повна поштова адреса установи, назва статті, слово «Резюме» («Summary»), текст резюме, ключові слова.

3.3 Стаття повинна бути підписана автором (авторами).

4. МОВНЕ ОФОРМЛЕННЯ ТЕКСТУ: ТЕРМІНОЛОГІЯ. УМОВНІ СКОРОЧЕННЯ, ПОСИЛАННЯ. ТАБЛИЦІ, СХЕМИ, МАЛЮНКИ

4.1. Автори несуть повну відповідальність за бездоганне мовне оформлення тексту, за правильну українську наукову термінологію (її слід звіряти за фаховими термінологічними словниками).

4.2. Латинські біологічні терміни (назви видів, родів) подаються обов'язково латиницею і курсивом. За першого вживання латинської назви у дужках слід обов'язково подати український відповідник назви.

4.3. Якщо часто повторювані у тексті словосполучення автор вважає за потрібне скоротити, то такі абревіатури за першого вживання наводять у дужках. Наприклад: селекційно-генетичний інститут (далі СГІ).

4.4. Посилання на літературу подаються у тексті статті, обов'язково у квадратних дужках, цифрами. Цифра в дужках позначає номер праці у «Списку літератури». Назви праць у списку літератури розташовуються у алфавітному порядку і оформлюються за правилами ВАК (див. «Бюлетень ВАК України, 2009, № 5, с. 26-30).

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:

а *б*

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 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 алфавітному порядку і оформлюються за правилами ВАКу.

Приклади бібліографічних описань

Книги, монографії, атласи, словники

Горячковский А. М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике: [справочное пособие] / *А. М. Горячковский*. — Одесса: Екология, 2005. — 616 с.

Эккерт Р. Физиология животных. Механизмы и адаптация / Р. Эккерт, Д. Рэнделл, Дж. Огастин; пер. с англ. Н. Н. Алипова, М. И. Харченко. — М.: Мир, 1992. — 344 с. — (Т. 2)

Поздеев О. К. Медицинская микробиология: учебник для ВУЗов / под ред. В. И. Покровского. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. — 786 с.

Определитель высших растений Украины / Д. Н. Доброчаева, М. И. Котов, Ю. Н. Прокудин и др. — К.: Наукова думка, 1987. — 548 с.

Анатомія пам'яті: атлас схем і рисунків провідних шляхів і структур нервової системи, що беруть участь у процесах пам'яті: посіб. для студ. та лікарів / О. Л. Дроздов, Л. А. Дзяк, В. О. Козлов, В. Д. Маковецький. — 2-ге вид, розшир. та доповн. – Дніпропетровськ: Пороги, 2005. — 218 с.

Українсько-німецький тематичний словник / [уклад. Н. Яцко та ін.]. — К.: Карпенко, 2007. — 219 с.

Статті із журналів

Андриевский А. М. Онтогенетические особенности пептидгидролазной активности экстрактов тканей Drosophila melanogaster / А. М. Андриевский, С. В. Катаненко, В. Н. Тоцкий // Укр. биохим. журн. — 1982. — Т.5 4, № 5. — С. 519–524.

Zhou S. Drug bioactivation, covalent binding to target proteins and toxicity relevance / S. Zhou, E. Chhan, W. Duan, F. Newmen // Drug Metab Rev. — 2005. — Vol. 37 (1) — P. 41–213.

Збірки

*Андриевский А. М.*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: науч. конф., 3–5 окт. 2004 г.: тезисы докл. — Харьков, 2004. — С. 12.

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: VII междунар. симп.: труды. — Москва, 2001. — С. 372.

De Man J. C. Cell transfer and Interferon Studies / J. C. De Man, M. Rogosa, M. E. Sharpe // Abstracts of the V International symposium of immunopharmacology,17–21 May 2004: proc. of conf, Quebec, 2004. — P. 31.

Дисертації, автореферати дисертації

Олярник О. О. Дослідження процесів перекисного окислення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту при цукровому діабеті: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня, канд. біол. наук: 03.00.04 «Биохимия» / О. О. Олярник. — К., 2007. — 17 с.

Олярник О. О. Дослідження процесів перекисного окислення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту при цукровому діабеті: дис… канд. біол. наук: 03.00.04 / Олексій Олексійович Орляник. — Київ, 2007. — 117 с.

Депоновані наукові роботи, патенти, авторськи свідотства

Рябушко Л. И. Микрофитобентос Филлофорного поля Зернова. – Севастополь: Деп. в ВИНИТИ 11.07.91 г., № 2981. — В91, 1991. — 28 с.

Патент України СО7Д 243/24 ФС № 953812. Способ отримання 3-окси-7-бром-5(орто-хлор)-бенздиазепина / И. И. Иванов; заявитель и патентообладатель Физико-химический институт им. А. В. Богатского. – № 19803; Заявл. 09.04.90; опубл. 22.06.92; НКИ 355/68. — 3 с.

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 та друкується на окремому аркуші. Якщо стаття написана російською мовою, то резюме подається українською та англійською.

Колонтитул (скорочений 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.

7. ЗРАЗОК ОФОРМЛЕННЯ ПУБЛІКАЦІЇ

УДК 576.315:575.222.73:633.1

Т. Г. ТРОЧИНСЬКА, к.б.н., доцент
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра генетики і молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна

ЕКСПРЕСІЯ ТА КОРЕЛЯЦІЙНІ ЗВ'ЯЗКИ ЦИТОМЕТРИЧНИХ ОЗНАК КЛІТИН ЧОЛОВІЧИХ ГЕНЕРАТИВНИХ СТРУКТУР ПШЕНИЦІ, ЖИТА ТА ЇХ ГІБРИДІВ В ОНТОГЕНЕЗІ РОСЛИН

За допомогою комп'ютерної цитометрії визначено показники оптичної щільності ядерець і цитоплазми клітин чоловічих генеративних структур пшениці, жита та міжродових гібридів першого покоління за забарвлення на сумарний білок. Виявлено суттєвий видовий та сортовий поліморфізм у прояві досліджуваних кількісних ознак у батьківських форм. Встановлено наявність високого кореляційного зв'язку між вмістом білків у ядерці і цитоплазмі досліджуваних клітин усіх використаних злаків протягом мікроспорогенезу. Показано зміни кореляційних зв'язків між об'ємом ядерець і вмістом білків у ядерці і цитоплазмі в процесі мікроспорогенезу.

Ключові слова: мінливість, каріометричні ознаки, цитохімічні ознаки, кореляція, пшениця, жито, пшенично-житні гібриди

... Текст вступу до статті
Матеріали та методи
Текст матеріалів та методів роботи
Результати та їх обговорення
Викладення результатів та їх аналіз
Висновки
Список літератури

1. *Анатомія* пам'яті: атлас схем і рисунків провідних шляхів і структур нервової системи, що беруть участь у процесах пам'яті: посіб. для студ. та лікарів / О. Л. Дроздов, Л. А. Дзяк, В. О. Козлов, В. ДМаковецький. – 2-ге вид, розшир. та доповн. – Дніпропетровськ: Пороги, 2005. – 218 с.

2. …

Т. Г.Трочинская
Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова, кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина

ЭКСПРЕССИЯ И КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ СВЯЗИ ЦИТОМЕТРИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ КЛЕТОК МУЖСКИХ ГЕНЕРАТИВНИХ СТРУКТУР ПШЕНИЦІ, РЖИ И ИХ ГИБРИДОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Резюме
С помощью компъютерной цитофотометрии определены показатели оптической плотности ядрышек и цитоплазмы клеток мужских генеративных структур пшеницы, ржи и межродовых гибридов первого поколения при окрашивании на суммарный белок. Установлен существенный видовой и сортовой полиморфизм в проявлении изученных количественных признаков родительских форм. Показана высокая корреляционная связь между содержанием белков в ядрышках и цитоплазме изученных клеток всех использованных злаков на протяжении микроспорогенеза. Выявлены изменения корреляционных связей между объемом ядрышек и содержанием белков в ядрышках и цитоплазме в процессе микроспорогенеза.

Ключевые слова: изменчивость, кариометрические признаки, цитохимические признаки, корреляция, пшеница, рожь, пшенично-ржаные гибриды.

T. G. Trochinskaya
Odesa National Mechnykov University, Department of Genetics and Molecular Biology,
2, Dvoryanska Str., Odesa, 65082, Ukraine

EXPRESSION AND CORRELATION OF CYTOMETRICAL CHARACTERS OF WHEAT, RYE AND WHEAT-RYE HYBRIDS F_1 MALE GENERATIVE STRUCTURES CELLS

Summary
The optical density indices of nucleolei and cytoplasm of male generative structures cells of wheat, rye and F_1 intergeneric hybrids, stained for the detection of total protein have been estimated. The essential differences depending on the species and cultivar have been determined for investigated characters of parental forms cells. The close correlation between protein content in the nucleolei and cytoplasm of all studied cereals cells have been shown during microsporogenesis. The dynamics of correlation between nucleolei volumes and protein content of nucleolei and cytoplasm have been observed for cells of male generative structures in microsporogenesis

Key words: changeability, cariometrical characters, cytochemical characters, correlation, wheat, rye, wheat-rye hybrids.

Верстка *Вітвицька В.Г.*

Підписано до друку 30.10.2012 р. Формат 70×108/16.
Папір офсетний. Гарнітура Newton. Друк цифровий. Ум. друк. арк. 6,8.
Тираж 100 прим. Зам. № 568.

Видавець і виготовлювач
Одеський національний університет імені І.І. Мечникова
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011 р.
65082, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12, Україна
Тел.: (048) 723 28 39
e-mail: druk@onu.edu.ua