

Подано експериментальні дані про особливості будови, розвитку та функціонування рослинних і тваринних організмів, флору та фауну України, одержані на основі досліджень, що проводяться науковцями ННЦ "Інститут біології" в галузях фізіології рослин і тварин, генетики, ботаніки, зоології, мікробіології, вірусології. Викладено також нові дані стосовно біохімічних і біофізичних основ регуляції у клітинах і органах у нормі й після впливу різноманітних фізико-хімічних факторів, наведено результати нових методичних розробок.

Для викладачів, наукових співробітників, аспірантів та студентів.

Подано экспериментальные данные об особенностях строения, развития и функционирования растительных и животных организмов, флору и фауну Украины, полученные на основе исследований, проводимых учеными ОНЦ "Институт биологии" в области физиологии растений и животных, генетики, ботаники, зоологии, микробиологии, вирусологии. Изложены также новые данные биохимических и биофизических основ регуляции в клетках и органах в норме и после воздействия различных физико-химических факторов, приведены результаты новых методических разработок.

Для преподавателей, научных сотрудников, аспирантов и студентов.

Collection of articles written by the scientists of ESC "Institute of Biology" contains data on research in molecular biology, physiology, genetics, microbiology, virology, botanics, zoology concerning the structure, development and function of the plant and animal organisms, flora and fauna of Ukraine. Results of newly developed biophysical methods of biological research, biochemical data regarding metabolic regulation under the influence of different factors are presented.

For scientists, professors, aspirants and students.

ВІДПОВІДАЛЬНИЙ РЕДАКТОР	Л.І. Остапченко, д-р біол. наук, проф.
РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ	Є.О. Торгалло, канд. біол. наук (відп. секр.); Т.В. Берегова, д-р біол. наук, проф.; С.В. Демидов, д-р біол. наук, проф.; К.С. Непорада, д-р мед. наук, проф.; М.Е. Дзержинський, д-р біол. наук, проф.; І.Ю. Костіков, д-р біол. наук, доц.; О.Я. Склярів, д-р мед. наук, проф.; В.С. Мартинюк, д-р біол. наук, проф.; М.С. Мірошніченко, д-р біол. наук, проф.; О.В. Жолос, д-р біол. наук, проф.; М.Ю. Макаrchук, д-р біол. наук, проф.; В.К. Позур, д-р біол. наук, проф.; Шандор Макаї, д-р біол. наук, проф.; В.П. Поліщук, д-р біол. наук, проф.; В.К. Рибальченко, д-р біол. наук, проф.; В.В. Серебряков, д-р біол. наук, проф.; Н.Ю. Таран, д-р біол. наук, проф.; А.В. Сиволоб, д-р біол. наук, проф.
Адреса редколегії	03127, Київ-127, просп. акад. Глушкова, 2а, ННЦ "Інститут біології"; ☎ (38044) 521-35-98
Затверджено	Вченою радою ННЦ "Інститут біології" 11.02.13 (протокол № 9)
Атестовано	Вищою атестаційною комісією України. Постанова Президії ВАК України № 1-05/1 від 10.02.10
Зареєстровано	Міністерством юстиції України. Свідоцтво про державну реєстрацію КВ № 16053-4525 ПР від 09.11.09
Засновник та видавець	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет". Свідоцтво внесено до Державного реєстру ДК № 1103 від 31.10.02
Адреса видавця	01601, Київ-601, 6-р Т.Шевченка, 14, кімн. 43 ☎ (38044) 239 31 72, 239 32 22; факс 239 31 28

ЗМІСТ

Заводовський Д., Хома О., Ноздренко Д., Сорока В. Зміна швидкісно-силових показників скорочення гомілкового м'язу щура за умов штучно викликанної васкулярної ішемії.....	5
Бакалець Т., Мінченко Д., Даніловський С., Мінченко О. Експресія генів протеїнінази родини PLK у клітинах гліоми лінії U87 за умов пригнічення функції сенсорно сигнального ензиму стресу ендоплазматичного ретикулу ERN1	7
Іскра Р. Амінотрансферазна та дегідрогеназна активність і вміст гормонів в організмі щурів за дії сполук хрому	13
Войтенко В., Степанець І., Конопельнюк В., Савчук О., Остапченко Л. Оцінка розвитку експериментальної хронічної алкогольної інтоксикації	17
Серєбрєнніков Б., Гандзюра В., Алексієнко М. Сумісний вплив кадмію і коливань солоності на молодь гупі	19
Абдуласва Я., Хаблак С. Видозміна коренів в кореневій системі у ARABIDOPSIS THALIANA (L.) HEYNH. під впливом мутацій генів COB1, LIT1 I SAB1.....	22
Борецька М., Радченко О., Степура Л., Юмина Ю. Вплив додецилсульфату натрію на морфологію клітин <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	24
Дворщенко К., Вакал С., Драницина А., Остапченко Л. Вільнорадикальні процеси у підшлунковій залозі за умов тривалої гіпоацидності та при дії мультипробіотика Симбітер.....	26
Неплій Л., Бабаянц О., Молодченкова О., Ляшук Н. Вплив ВЖКЯ на кількісний вміст хлорофілів, каротиноїдів та загальних цукрів у листках озимої пшениці в південному степу України	29
Макаренко О., Тукаленко Є., Пахольченко В., Коваленко О., Крушінський В., Макарчук М. Дослідження впливу потенційних лікарських засобів M2 та Церебрал на поведінку інтактних щурів	33
Кілочичька Н. Асоціації гідробіонтів в куліцидогенних водоймах м. Києва.....	36
Маркова А., Турчик А., Горобець Л. Особливості поведінки лісових птахів на місцях водопою.....	39
Салига Н. Активність каталази та супероксиддисмутази в окремих органах щурів за впливу L-глутамінової кислоти	43
Казанник В., Коваленко О., Серебряков В. Результати обліків водоплавних птахів київської агломерації у зимовий період 2011-2012 рр.....	46
Малиновська І., Домбровська І. Особливості мікробних угруповань ризосфери фітоценозів різного типу	49
Верещака В. Частота виникнення старечої в'ялості шкіри лица	52
Ситар О., Таран Н. Антиоксидантна активність та вміст антоціанів у рослин гречки та льону в умовах культури <i>in vitro</i>	55

СОДЕРЖАНИЕ

Заводовский Д., Хома О., Ноздренко Д., Сорока В. Изменение скоростно-силовых показателей сокращения берцовой мышцы крысы в условиях искусственно вызванной васкулярной ишемии.....	5
Бакалец Т., Минченко Д., Даниловский С., Минченко А. Экспрессия генов протеинкиназы семейства <i>PLK</i> в клетках глиомы линии <i>U87</i> в условиях угнетения функций сенсорно-сигнального энзима стресса эндоплазматического ретикулума.....	7
Искра Р. Аминотрансферазная и дегидрогеназная активность и содержание гормонов в организме крыс в условиях действия соединений хрома.....	13
Войтенко В., Степанец И., Конопельнюк В., Савчук А., Остапченко Л. Оценка развития экспериментальной хронической алкогольной интоксикации.....	17
Серебренников Б., Гандзюра В., Алексеенко М. Совместное влияние кадмия и колебаний солености на ранее развитие гупи	19
Абдуллаева Я., Хаблак С. Видоизменение корней в корневой системе в <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> (L.) HEYNH под влиянием мутаций генов <i>COB1</i> , <i>LIT1</i> и <i>SAB1</i>	22
Борецкая Н., Радченко А., Степура Л., Юмина Ю. Влияние додецилсульфата натрия на морфологию клеток <i>STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA</i>	24
Дворченко К., Вакал С., Драницина А., Остапченко Л. Свободнорадикальные процессы в поджелудочной железе в условиях длительной гипоацидности и при воздействии мультипробиотика Симбитер	26
Неплий Л., Бабаянц А., Молодченкова А., Ляшук Н. Влияние ВЭЖХ на количественное содержание хлорофиллов, каротиноидов и общих сахаров в листьях озимой пшеницы в южной степи Украины	29
Макаренко А., Тукаленко Е., Пахольченко В., Коваленко А., Крушинский В., Макаrchук М. Исследование влияния потенциальных лекарственных средств M2 и Церебрала на поведение интактных крыс	33
Килочицкая Н. Ассоциации гидробионтов в кулицидогенных водоемах г. Киева	36
Маркова А., Турчик А., Горобец Л. Особенности поведения лесных птиц на водопоях	39
Салига Н. Активность каталазы и супероксиддисмутазы в разных органах при воздействии L-глутаминовой кислоты.....	43
Казанник В., Коваленко А., Серебряков В. Результаты учетов водоплавающих птиц киевской агломерации в зимний период 2011-2012 гг.....	46
Малиновская И., Домбровская И. Особенности микробных групп ризосферы фитоценозов различного типа.....	49
Верещака В. Частота возникновения старческой вялости кожи лица	52
Ситар А., Таран Н. Антиоксидантная активность и содержание антоцианов у растений гречки и льна в условиях культуры <i>in vitro</i>	55

CONTENTS

Zavodovskiy D., Homa O., Nozdrenko D., Soroka V. Change of speed, quickly sorts feet-power reduction targets calf muscle of rats in conditions of artificially induced ischemia vascular	5
Bakalets T., Minchenko D., Danilovskiy S., Minchenko O. Gene expression of protein kinases PLK family in glioma cell lines U87 under suppression of sensory-signaling enzyme endoplasmic reticulum stress ERN1	7
Iskra R. Aminotransferase and dehydrogenase activity and the content of hormones in the organism of rats for the actions of chromium compounds.....	13
Voitenko V., Stepanets I., Konopelnyuk V., Savchuk O., Ostapchenko L. Estimation of the development of experimental chronic alcohol intoxication	17
Serebrennikov B., Gandzyura V., Aleksienko M. Combined influence of salinity oscillations and cadmium on guppy fry	19
Abdulaeva Ya., Hablak S. Modification of the roots of the root system in <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> (L.) HEYNH under the influence of mutations of genes <i>COB1</i> , <i>LIT1</i> И <i>SAB1</i>	22
Boretska M., Radchenko O., Stepura L., Yumuna Iu. The sodium dodecyl sulfate influence on <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> morphology.....	24
Dvorshchenko K., Vakal S., Dranitsina A., Ostapchenko L. Free radical processes in pancreas upon long-term hypoacidity and with action of multiprobiotic Symbiter	26
Nepliy L., Babayants O., Molodchenkova O., Lyashuk N. Effect HPLC on quantitative content chlorophylls, carotenoids and total sugars in leaves of winter wheat in the southern field Ukraine.....	29
Makarenko O., Tukalenko Eu., Pakholchenko V., Kovalenko O., Krushinskiy V., Makarchuk M. Researching the influence medical agents M2 and Cerebral on the behavior of intact rats	33
Kilochytska N. Hydrobionts association in culicidogenous bodies by Kiev.....	36
Markova A., Turchik A., Gorobetz L. Specific behavior of forest birds on the watering place	39
Saluga N. The activity of catalase and superoxide dismutase in the individual organs of rats because of the influence of L – glutaminic acid	43
Kazannyk V., Kovalenko O., Serebryakov V. Results of the counts of waterfowl and waterberds of the kiev agglomeration in winter 2011-2012	46
Malinovska I., Dombrovska I. Features rhizosphere microbial communities of different types of plant communities	49
Vereshchaka V. The frequency of appearing senile slackness skin	52
Sutar O., Taran N. Antioxidant activity and anthocyanin content in plant buckwheat and flax in a culture <i>in vitro</i>	55

ЗМІНА ШВИДКІСНО-СИЛОВИХ ПОКАЗНИКІВ СКОРОЧЕННЯ ГОМІЛКОВОГО М'ЯЗУ ЩУРА ЗА УМОВ ШТУЧНО ВИКЛИКАНОЇ ВАСКУЛЯРНОЇ ІШЕМІЇ

В роботі наведені результати отримані лабораторією збудливих систем Київського Національного Університету ім. Тараса Шевченка при дослідженні ішемічного переродження скелетних м'язів, а саме розглядаючи зміну швидкісно-силових показників на штучно ішемізованих м'язах задніх кінцівок пацюків. Показано, ішемія гомілкового м'язу щура (muscle gastrocnemius) призводить до патологічних змін скелетном'язових волокон. Ішемізація muscle gastrocnemius викликає зменшення максимальної силової продуктивності. Збільшення швидкості наростання частоти стимуляції призводить до зрушення виходу скорочення на тетанічний рівень, та часових змін динамічних параметрів скорочення.

Ключові слова: компартмент-синдром, скелетна травма, гомілковий м'яз, васкулярна ішемія.

В работе приведены результаты полученные лабораторией возбудимых систем Киевского Национального Университета им. Тараса Шевченко. При исследовании ишемического перерождения скелетных мышц, а именно рассматривая изменение скоростно-силовых показателей на искусственно ишемизированных мышцах задних конечностях крыс было показано, что ишемия берцовой мышцы крысы (muscle gastrocnemius) приводит к патологическим изменениям скелетномышечных волокон. Ишемизация muscle gastrocnemius вызывает уменьшение максимальной силовой производительности. Увеличение скорости нарастания частоты стимуляции приводит к сдвигу выхода сокращения и временных изменений динамических параметров сокращения.

Ключевые слова: компартмент-синдром, скелетная травма, берцовая мышца, васкулярная ишемия.

Article contents science results obtained by laboratory of excitatory systems of Taras Shevchenko National University of Kyiv which was collected through set of experiment on ischemic transformation of skeletal muscles of lower extremities of the rat. Demonstrated that ischemia of muscle gastrocnemius leads to pathological changes in myofibrils. M. gastrocnemius ischemisation results in decline of maximum force production. Increase in speed of frequency increment results in shift of switch to tetanic contraction and time changes in muscle contraction dynamics.

Keywords: compartment syndrome, skeletal trauma, calf muscle, vascular ischemia.

Вступ. Питання патогенезу, діагностики та лікування гострого внутрішньотканинного гіпертензійного синдрому далекі від глибокого розуміння. Клінічні прояви компартмент синдрому складні у вивченні та не систематизовані через ускладнюючий паралельний генез тяжкої скелетної травми. Також на сьогодні не сформульовані критерії, дозволяючи класифікувати його за ступенем тяжкості, виділити стадії розвитку синдрому в залежності від вираженості процесів компенсації (декомпенсації) регіонарного кровотоку.

Насьогодні, рівень фундаментального дослідження гладеньких м'язів [1-3] набагато вищий ніж скелетних [4]. Проте в останні роки з'явилися достатньо глибокі фундаментальні дослідження певних аспектів функціонування скелетних м'язів [5-8]. Незважаючи на це, залишається поза належною увагою питання дослідження прикладних медичних аспектів фізіології та біофізиків скелетних м'язів які б могли допомогти амеліоризувати методики діагностики та лікування м'язових патологій. На виключній необхідності розробки даного напрямку досліджень наголошують визнані вітчизняні та закордонні спеціалісти [9,10].

У генезі регіонарного кровотоку при травмах кінцівок значне місце займає компартмент-синдром (КС). Компартмент-синдром (від англ. Compartment – перегородка, купе, відсік, простір) – стан, за якого високий внутрішньо тканинний тиск в щільних кістково-фасціальних просторах призводить до порушення (зниження) кровообігу у капілярній системі та складає загрозу девіталізації тканин та різних ступенів тяжкості ішемічного переродження м'язів утворюючих та межуючих з враженим компартментом. За переломів кісток гомілки частота розвитку КС досягає 35% [11]. КС найчастіше зустрічається при закритих та відкритих переломах, що супроводжуються утворенням та подальшим зміщенням кісткових уламків [12]. Підвищення підфасціального тиску у 48% хворих з сегментарними переломами гомілки призводить до необхідності виконання декомпресійної фасціотомії, при цьому в 19% випадків в віддаленому періоді травми зберігається стійкий неврологічний дефіцит у вигляді розладів рухів та чутливості. Кпоор та соавтори [13] спостерігали 78 хворих з КС після переломів кісток гомілки, з них 53% отримали травми в дорожньо

транспортних аваріях. Л. Н. Анкин [14] вважає, що функціональні розлади після переломів кісток гомілки в більшості випадків обумовлені саме КС. Треба зазначити, що у вітчизняній літературі більш широко застосовується термін "гострий внутрішньо тканинний гіпертензійний синдром" (ГВТГС) [15]. Виходячи з вище наведеного питання вивчення процесів що протікають в скелетних м'язах за їх ішемічного пошкодження виглядають вкрай актуальними та маючим глибоке фундаментальне та практичне значення.

В даній роботі наведені перші результати отримані лабораторією Збудливих систем Київського Національного Університету ім. Тараса Шевченка при дослідженні ішемічного переродження скелетних м'язів, а саме розглядаючи зміну швидкісно- силових показників на штучно ішемізованих м'язах задніх кінцівках пацюків.

Матеріали та методи досліджень. Експерименти, виконували на 12 дорослих щурах масою від 0,2 до 0,3 кг. Тривалість досліду складала 8 годин, час гострої ішемії – 5 годин. При попередній підготовці до експерименту анестезію здійснювали внутрішньочеревним введенням нембутала (40 мг/кг). Для ішемізації м'язів використовували розріз шкіри (L= 1,5-2,5 см.) по внутрішньої поверхні стегна та гомілки. Лігатурами перетягувалася гілка стегнової артерії та вени разом з іншими перфорантними судинами, що забезпечують кровопостачання експериментального м'яза. Стандартна підготовка поряд з вище зазначеними заходами включала препарування й канюлювання (для введення фармпрепаратів і для вимірювання тиску), трахеотомію, ламінектомію на рівні поперекового відділу спинного мозку. M. gastrocnemius ретельно звільняли від оточуючих тканин, у дистальній частині перерізали його сухожильну частину у поперек. Для підготовки до модульованої стимуляції еферентів у сегментах L7-S, перерізали вентральні корінці безпосередньо в місця їхнього виходу зі спинного мозку.

Зміну сили вимірювали за допомогою чотирьох тензорезисторів, наклеєних із двох сторін на сталеву пластину та включених у мостову вимірювальну схему. Сигнали, сформовані обома вимірювальними пристроями подавалися до відповідних реєстраторів та одночасно із цим служили сигналами зворотнього зв'язку у двох незалежних контурах серворегулювання. Оптимальне

настроювання параметрів кожного регулятора робилося при механічному навантаженні механостимулятора еластичним навантаженням із жорсткістю близько 0,5 Н/мм. Постійні часу перехідних процесів в обох режимах сервоконтролю не перевищували 50 – 60 мс, власна піддатливість механостимулятора при його оптимальному настроюванні не перевищувала 2 мкН/мм.

Для формування командних сигналів використовували програмовані генератори сигналів спеціальної форми. Зовнішнє навантаження на ішемізований м'яз здійснювали за допомогою системи механостимулятора. Збурення навантаження здійснювали лінійним електромагнітним двигуном. Стимуляцію здійснювали електричними імпульсами прямокутної форми тривалістю 2 мс, сформованими за допомогою генератора імпульсів, керованим АЦП, через платинові електроди. Характеристики стимулюючого сигналу задавали програмно й передавали з комплексу АЦП-ЦАП на генератор.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили за методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення Origin 8.0.

При визначенні випадкового відхилення користувались наступною формулою:

$$\Delta_B = t \sqrt{\frac{\delta_1^2 + \delta_2^2 + \dots + \delta_n^2}{n(n-1)}}$$

де Δ – поодинокі випадкові відхилення, n – кількість вимірювань, t – коефіцієнт Стюдента. Остання величина – таблична й залежить від кількості вимірювань n

та ступеню достовірності P . Величина P у експериментах була 0.95-0.98.

Кожна з кривих, наведених на рисунках у даній роботі, є результатом усереднення 12-ти аналогічних експериментів.

Результати та їх обговорення. На рис. 1,2 наведені результати зміни сили гомілкового м'язу щура, отримані під впливом модульованого стимуляційного сигналу після штучної ішемізації.

Зміна швидкості динамічних ділянок (ділянка Δt_1) стимуляційного сигналу дозволила прослідкувати зрушення генерації силової відповіді ішемізованого м'язу в процесі розвитку потологічних змін м'язової тканини.

Співставлення швидкості м'язової реакції (ділянка Δt_1) на зміну частотно-модульованої аферентної стимуляції показало, що ділянки відповідні стаціонарному утриманню сили, зі збільшенням швидкості приросту частоти стимуляції не співпадали ділянками максимальної частоти стимуляції. Ця асиметрія збільшувалась зі збільшенням часу ішемізації м'язу. Розходження характеру руху було більш вираженим в умовах розвантаження м'язу (ділянка Δt_3). З одного боку це може бути обумовлено різницею в процесах розвитку динаміки вкорочення та подовження, внаслідок чого запізнення руху в фазах вкорочення повинно бути більш помітним, з іншого боку, при вкороченні м'язу розходження в русі могло збільшуватись внаслідок збільшення жорстких компонентів м'язу збільшення яких в ішемізованій тканині набуває критичних значень.

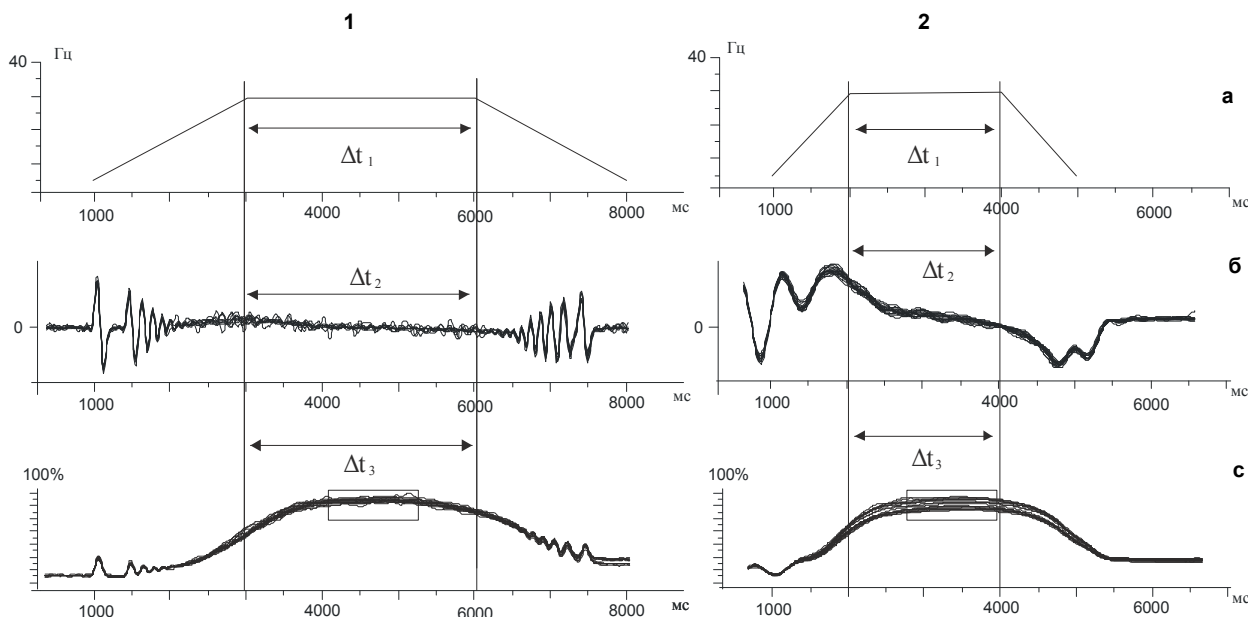


Рис.1, 2. Криві генерації сили ішемізованого м'язу за застосування модульованого стимулюючого сигналу:

(а) – криві зміни силової відповіді м'язового скорочення.

(б) – швидкість зміни сили скорочення

(с) – частотні зміни прикладеної електричної стимуляції.

Δt_1 – Δt_3 часові інтервали стимуляції.

Вертикальними лініями вказані межі періодів зміни сили

Слід відзначити ще одну важливу властивість скорочення ішемізованого м'язу. Як відомо, для лінійних динамічних систем повинен виконуватись принцип суперпозиції, який полягає в тому, що реакція системи на суму взаємодій повинна співпадати з сумою реакцій на кожний з входних впливів окремо. В даному випадку прослідковується зсув максимальних силових відповідей тільки з збільшенням швидкості приросту частоти стимуляційного сигналу, без змін зовнішнього навантажен-

ня. На нашу думку це пов'язано з більш значними патологічними змінами в генерації сили скорочення саме на дотетанічних ділянках, внаслідок нерівномірного руйнування різних молекулярних компонентів в елементах скорочувального апарату м'язу на різних фазах скорочення. Слід підкреслити, що даний феномен з'являється лише в умовах близьких до фізіологічних, що свідчить про важливість цього порушення динамічних хара-

ктеристик скорочення і в загальному механізмі розвитку ішемічних патологій.

Отже збільшення запізнення часу виходу на стаціонарний рівень скорочення, з підвищенням швидкості наростання стимуляційного сигналу пов'язано саме з неспроможністю ішемізованого м'язу адекватно реалізовувати низхідні пули аферентної активності. В той же час збільшення швидкості спаду еферентного подразнення коректувало цей час затримки в бік збільшення м'язової сили, а підвищення швидкості приросту частоти еферентного подразнення в бік зменшення.

Список використаної літератури. 1. Kao C. Y., CarstenMary E. Cellular Aspects of Smooth Muscle Function// U.S.A.:Cambridge University Press – 2005. – P.312. 2. Khalil Raouf A. Regulation of Vascular Smooth Muscle Function// U.S.A.: Morgan&Claypool – 2010. – P.62. 3. Garanich J. S. Therole of vascular smooth muscle cells an dadventitial fibroblasts in flow mediated mechanisms of intimal hyperplasia an darterialization//U.S.A.: ProQuest – 206. – P.140. 4. MacIntosh R., Gardiner F., McComas J. Skeletal muscle: formand function //U.S.A.: HumanKinetics. – 2006. – P.423

5. Костюков А.И. Нелинейные свойства собственно-мышечного сокращения и их влияние на динамику двигательной системы: Дис. док. биол. наук: 03.00.13. – К., 1991. – 282 с. 6. Костюков А.И., Тальнов А.Н. Систематические ошибки позиционирования в односуставных произвольных движениях человека, выполняемых в отсутствие визуального контроля // Нейрофизиология. – 1994. – Т.26, №2. – С.72-77. 7. Прилуцкий Ю.И., Данилова В.М., Богуща К.И., Залоило І.А., Ноздренко Д.Н., Мірошніченко М.С. Математична модель участі тропоніна С у регуляції м'язового скорочення //Доповіді НАН України. – №8. – 2002 р. 8. Мірошніченко М.С., Ноздренко Д.М., Залоило І.А. Динамика сокращения и золированного мышечного волокна лягушки при высокочастотной модулированной стимуляции // Физика живого – 2002. – 10, №1. – с. 41-48. 9. Страфун С.С., Бруско А.Т., Ляхах та співавт. // Профілактика, діагностика та лікування ішемічних контрактур кисті та стопи//Київ: Стило-2007. – P.264. 10. Tiidus M. Skeletal muscle damage an drepair// U.S.A.: Human Kinetics – 2008. – P. 337. 11. Moehring H.D., VoigtlandeT J.P. //Orthopedics. – 1995. – Vol. 18, N 7. – P. 631-635. 12. Ulmer T. //J. Orthop. Trauma. – 2002. – Vol. 16, N 8. – P. 572-577. 13. Knopp W., Schumm F., Buehholz J., Ekkemkamp J. //Chirurg. – 1994. – Vol. 665, N 11. – P. 988-991. 14. Анкин Л.Н., Анкин Н.Л. // Практическая травматология. Европейские стандарты диагностики и лечения. – М., 2002. – С. 339-343. 15. Анкин Л.Н. // Травматология. – М., 2005. – С. 59-61.

Надійшла до редколегії 01.10.12

УДК 577.112.7

Т. Бакалець, асп., Д. Мінченко, канд. мед. наук,
С. Даниловський, мол. наук. співроб., О. Мінченко, проф.

ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ ПРОТЕЇНКІНАЗ РОДИНИ PLK У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ ЛІНІЇ U87 ЗА УМОВ ПРИГНІЧЕННЯ ФУНКЦІЇ СЕНСОРНО-СИГНАЛЬНОГО ЕНЗИМУ СТРЕСУ ЕНДОПЛАЗМАТИЧНОГО РЕТИКУЛУМУ ERN1

Серин-треонінові протеїнкінази родини PLK відіграють важливу роль у регуляції клітинного циклу та рості злоякісних пухлин. Встановлено, що пригнічення функції сенсорно-сигнального ензиму ERN1 (від ендоплазматичного ретикулуму до ядра-1), що є основною сигнальною системою стресу ендоплазматичного ретикулуму, істотно змінює рівень експресії генів протеїнкіназ родини PLK (POLO-like кінази 1 – 4), у клітинах гліоми лінії U87, але більш виражено генів PLK1, PLK2 та PLK4. Ці зміни в експресії генів PLK1, PLK2, PLK3 та PLK4 не опосередковані ендорибонуклеазною активністю ензиму ERN1, оскільки пригнічення лише ендорибонуклеази ERN1 не впливає істотно на експресію генів родини PLK. В той же час, індукція стресу ендоплазматичного ретикулуму тунікаміцином у клітинах з пригніченою функцією лише ендорибонуклеази викликає виражені зміни в експресії всіх генів родини PLK: в три і більше разів знижується експресія генів PLK1 та PLK4, в той час як рівень експресії генів PLK2 та PLK3 істотно збільшується, що свідчить про залежність експресії цих генів від кіназної активності ERN1 і/або інших сенсорно-сигнальних шляхів стресу ендоплазматичного ретикулуму. Гіпоксія пригнічує експресію генів PLK1, PLK2, PLK3 та PLK4 в контрольних клітинах гліоми, але у клітинах з втраченою функцією ERN1 ефект гіпоксії на рівень експресії цих генів відсутній або є значно зменшеним. Також показано, що рівень експресії генів PLK1, PLK2 та PLK4 змінюється за умов дефіциту глюкози у клітинах гліоми і також залежить від функції сигнального ензиму ERN1. Таким чином, результати досліджень демонструють залежність експресії генів родини PLK і їх регуляції за умов гіпоксії та дефіциту глюкози у клітинах гліоми лінії U87 від функції сигнального ензиму ERN1, а також можливість регуляції їх експресії іншими сенсорно-сигнальними системами стресу ендоплазматичного ретикулуму.

Ключові слова: експресія генів, серин-треонінові протеїнкінази, ендоплазматичний ретикулум.

Серин-треонінові протеїнкінази родини PLK іграють важливу роль у регуляції клітинного циклу та росте злокачественных опухолей. Установлено, что подавление функции сенсорно-сигнального энзима ERN1 (от эндоплазматического ретикулума до ядра-1), что является основной сигнальной системой стресса эндоплазматического ретикулума, существенно меняет уровень экспрессии генов протеинкиназы семьи PLK (POLO-like киназы 1 – 4), в клетках глиомы линии U87, но более выражено генов PLK1, PLK2 и PLK4. Эти изменения в экспрессии генов PLK1, PLK2, PLK3 и PLK4 не опосредованные эндорибонуклеазной активностью энзима ERN1, поскольку угнетение только эндорибонуклеазы ERN1 не влияет существенно на экспрессию генов семейства PLK. В то же время, индукция стресса эндоплазматического ретикулума туникамицином в клетках с подавленной функцией только эндорибонуклеазы вызывает выраженные изменения в экспрессии всех генов семейства PLK: в три и более раз снижает экспрессию генов PLK1 и PLK4, в то время как уровень экспрессии генов PLK2 и PLK3 существенно увеличивается, что свидетельствует о зависимости экспрессии этих генов от киназной активности ERN1 и/или других сенсорно-сигнальных путей стресса эндоплазматического ретикулума. Гипоксия подавляет экспрессию генов PLK1, PLK2, PLK3 и PLK4 в контрольных клетках глиомы, но в клетках с утраченной функцией ERN1 эффект гипоксии на уровень экспрессии этих генов отсутствует или значительно уменьшается. Также показано, что уровень экспрессии генов PLK1, PLK2 и PLK4 меняется в условиях дефицита глюкозы в клетках глиомы и также зависит от функции сигнального энзима ERN1. Таким образом, результаты исследований демонстрируют зависимость экспрессии генов семейства PLK и их регуляции при гипоксии и дефицита глюкозы в клетках глиомы линии U87 от функции сигнального энзима ERN1, а также возможность регуляции их экспрессии другими сенсорно-сигнальными системами стресса эндоплазматического ретикулума.

Ключевые слова: экспрессия генов, серин-треониновые протеинкиназы, эндоплазматический ретикулум.

Serine/threonine kinases PLK family plays an important role in the regulation of cell cycle and tumor growth. It was shown that suppression of both enzymatic functions of sensor and signaling enzyme ERN1 (endoplasmic reticulum – nuclei-1), the major component of endoplasmic reticulum stress signaling, significantly changes the expression level of protein kinase PLK gene family (POLO-like киназы 1-4) in glioma cell line U87, being more significant for PLK1, PLK2 and PLK4. These changes in the expression of PLK1, PLK2, PLK3 and PLK4 are not mediated by endoribonuclease of ERN1 enzyme, because suppression only this enzymatic activity of ERN1 had no effect on the expression of PLK gene family. At the same time, the induction of endoplasmic reticulum stress by tunicamycin in glioma cells with ERN1 endoribonuclease function leads to significant changes in the expression of all PLK gene family: decreases the expression of PLK1 and PLK4 in three fold and more and significantly increased the expression of PLK2 and PLK3. These results demonstrate the dependence of these gene expressions from ERN1 kinase activity and/or other sensor and signaling systems of endoplasmic reticulum stress. Hypoxia decreases the expression of PLK1, PLK2, PLK3 and PLK4 genes in control glioma cells, but in cells with ERN1 loss of function effect of hypoxia on the expression level of these genes is lacking or significantly reduced. It was also shown that the expression level of PLK1, PLK2

and PLK4 genes is changed in glioma cells at glucose deprivation conditions, but it also depends from ERN1 enzyme function. Thus, results of this investigation clearly demonstrated that the expression of PLK gene family and its regulation in hypoxia and glucose deprivation conditions in U87 glioma cells is dependent from ERN1 signaling enzyme function and is mostly regulated by hypoxia and glutamine or glucose deprivation in dependence from ERN1 signaling enzyme function as well as possibly of its regulation by other endoplasmic reticulum stress sensor and signaling systems.

Keywords: gene expression, the serine-threonine protein kinase, the endoplasmic reticulum.

Вступ. Протеїнкінази та протеїнфосфатази відіграють важливу роль у регуляції різноманітних процесів в організмі як в нормі, так і за різних патологічних процесів, зокрема в рості злоякісних пухлин. Особлива роль в процесах малігнізації належить серин-треоніновим протеїнкіназам, зокрема протеїнкіназам родини PLK (POLO-like кінрази), які задіяні у регуляції клітинного циклу та проліферації пухлинних клітин [1 – 4]. До цієї родини відносяться PLK1, PLK2, PLK3 та PLK4, які мають різні функціональні властивості і кодуються різними генами. Ці протеїнкінази є ключовими регуляторами проходження клітинного циклу, мітозу і є залежними від пошкоджень ДНК. Більше того, експресія генів *PLK1*, *PLK2* та *PLK4* координовано регулюється протягом клітинного циклу, а експресія гена *PLK3* є відносно незалежною від інших членів родини PLK, причому у різних злоякісних пухлинах виявлена дисрегуляція різних PLK. Так, надекспресія *PLK1* корелює з посиленою проліферацією клітин, а *PLK2* та *PLK3* задіяні у зупинці проходження клітинного циклу і втрата їх функціональної активності внаслідок мутацій призводять до онкогенної трансформації [1, 3, 5]. Відомо також, що *PLK1*, як негативний регулятор TP53 родини, фосфорилує TOPORS, що приводить до пригнічення симоїлування TP53 та одночасно посилює убіквітацію і, відповідно, деградацію TP53, а наявність взаємозв'язку TP53 і *PLK1* з протеїном центріолей 55 (Сер55), в якому TP53 негативно регулює експресію Сер55 через *PLK1*, підвищує стабільність протеїну Сер55 [5]. Крім того, було встановлено, що *CDK11* (p58) взаємодіє з *PLK4*, що значною мірою контролює кількість центріолей у клітині [6]. *PLK3* та *PLK4* є залежними від стресу кінказами, причому в промоторі гена *PLK4* виявлено 8 потенційних сайтів зв'язування сплайс-варіанту транскрипційного фактора XBP1 (X-box binding protein 1) [7].

Гіпоксія, як і умови дефіциту поживних речовин є важливими факторами росту злоякісних пухлин. Гіпоксія, а також багато інших факторів індують стрес ендоплазматичного ретикулулу та експресію великої кількості генів, в тому числі гени, що контролюють процеси проліферації та малігнізації [8]. Стрес ендоплазматичного ретикулулу є відповіддю на накопичення не згорнутих або не правильно згорнутих протеїнів у ендоплазматичному ретикулі, що опосередковується трьома сенсорами, локалізованими в ендоплазматичному ретикулі: PERK (PRK-like ER kinase), IRE1/ERN1 (Inositol Requiring Enzyme-1/Endoplasmic Reticulum to Nuclei-1) та ATF6 (Activating Transcription Factor 6), але ERN1 (від ендоплазматичного ретикулулу до ядра-1) є головним сенсором [10, 11]. Активація стресу ендоплазматичного ретикулулу призупиняє вхід *de novo* протеїнів до ендоплазматичного ретикулулу і сприяє як фолдингу протеїнів в ендоплазматичному ретикулі, так і їх деградації, відповідно для виживання клітин або їх смерті через асоційовані із стресом ендоплазматичного ретикулулу механізми [7, 12, 13]. Таким чином, він приймає участь у ранній реакції клітин на акумуляцію у люмені ендоплазматичного ретикулулу не згорнутих або не правильно згорнутих протеїнів як за фізіологічних, так і патологічних умов [9, 12].

Виявлено два різних каталітичних домени у біфункціональному сенсорно-сигнальному ензимі ERN1: се-

рин/треонінова кінказа та ендорибонуклеаза, які опосередковують ERN1 сигналінг. Асоційована з ERN1 кіназна активність аутофосфорилує цей ензим, що є необхідним моментом його димеризації та активації ендорибонуклеазного домену. Останній є відповідальним за деградацію певних мРНК та ініціацію альтернативного сплайсингу пре-XBP1 мРНК [7]. Зрілий сплайс-варіант мРНК XBP1 (XBP1s) кодує синтез транскрипційного фактора, який контролює експресію сотень генів, що мають відношення до стресу ендоплазматичного ретикулулу [12, 13]. Більше того, XBP1s має також ряд додаткових функцій, особливо у регуляції метаболізму глюкози [14, 15]. Так, протеїнкіназа p38 MAP фосфорилує альтернативний сплайс-варіант XBP1 і посилює його міграцію до ядра. Крім того, регуляторна субодина фосфатидилінозитол 3-кінрази взаємодіє з XBP1 і також збільшує його ядерну транслокацію [16]. Недавно було показано, що XBP1s взаємодіє з транскрипційним фактором FOXO1 (Forkhead box O1) і направляє його для деградації, опосередкованій протеосомаю [15]. В той же час, було встановлено, що інгібітор кінрази ERN1 може активувати ендорибонуклеазу цього ензиму, захищаючи клітини від стресу ендоплазматичного ретикулулу. Можливо, що ця активація ендорибонуклеази ERN1 є результатом взаємодії ERN1 сигнального шляху з іншими сенсор-сигнальними системи стресу ендоплазматичного ретикулулу в умовах пригнічення кіназної активності ERN1.

Залежний від стресу ендоплазматичного ретикулулу ERN1 сигнальний шлях контролює також рівень експресії великої кількості кіназ, в тому числі протеїнкіназ, і є асоційованим з гіпоксією, а також тісно пов'язаний з процесами проліферації та росту злоякісних пухлин, оскільки повна блокада функції сигнального шляху ERN1 проявляє анти пухлинний ефект на клітинах аденокарциноми легень та гліоми [7, 17 – 19]. Злоякісні гліоми є надзвичайно агресивними пухлинами і характеризуються вираженим ангиогенезом та посиленою інвазією клітин в нормальну паренхіму мозку [12]. Як гіпоксія, так і чинники, що імітують ефекти ішемії, є асоційованими з ростом гліом і локально активують адаптивну відповідь, яка сприяє виживанню пухлинних клітин і посилює їх агресивність [12]. Краще розуміння механізмів залежності клітин від гіпоксії та ішемічних чинників є необхідною умовою для розробки терапевтичних стратегій пригнічення росту пухлин шляхом блокади регуляторних механізмів, зокрема шляхом можливого впливу на ключові регуляторні протеїнкінази.

Метою даної роботи було вивчення експресії генів, що кодують синтез серин-треонінових протеїнкіназ родини PLK (*PLK1*, *PLK2*, *PLK3* та *PLK4*) у клітинах гліоми лінії U87 з повним пригніченням функції сенсорно-сигнального ензиму ERN1 (виключені як кіназна, так і ендорибонуклеаза активності) або частковим пригніченням (виключена лише ендорибонуклеаза активність) за умов гіпоксії, а також дефіциту глюкози або глутаміну для в'яснення механізмів регуляції експресії цих протеїнкіназ і їх залежності від функції ERN1.

Матеріали та методи. Клітини гліоми лінії U87 були отримані із ATCC (США) і росли в середовищі DMEM (Dulbecco's modified Eagle's minimum essential medium; Gibco, Invitrogen, США) з високою концентрацією глюко-

зи (4.5 г/л), що містило додатково 2 mM глутаміну, 10% ембріональної сироватки телят (Equitech-Bio, Inc., США), пеніцилін (100 одиниць/мл; Gibco) та стрептоміцин (0.1 мг/мл; Gibco) при 37°C в інкубаторі з 5% CO₂. У цій роботі були використані три сублінії клітин гліоми. Одну з них було отримано шляхом селекції клонів, стабільно трансфєкованих вектором pcDNA3.1, який був використаний для створення доміант-негативних конструкцій, що містили кДНК сенсорно-сигнального ензиму ERN1 без кіназного та ендорибонуклеазного доменів (dnERN1) або кДНК ERN1 з мутацією в каталітичній частині ендорибонуклеази (dnrERN1), яка була індукована введенням в структуру каталітичного домена ендорибонуклеази чотирьох нуклеотидних залишків, що змінили рамку зчитування і ініціювали появу передчасного термінуючого трансляційного кодону. Створена таким чином конструкція могла кодувати синтез вкороченого з C-кінця ензиму без ендорибонуклеазної активності [GenBank accession number JQ425696], що оцінювали по утворенню альтернативного сплайс-варіанту XBP1 за умов стресу ендоплазматичного ретикулу, індукованого тунікаміцином (10 мкг/мл – 2 години). Сублінія клітин гліоми, трансфєкованих вектором була використана в якості контрольних клітин гліоми, що позначені на рисунках як контроль 1. З ним порівнювали ефект гіпоксії та дефіциту глюкози або глутаміну, а також ефект повного або часткового пригнічення функції ензиму ERN1, на експресію генів родини PLK у цих контрольних клітинах. Друга сублінія була отримана шляхом селекції клонів, стабільно трансфєкованих доміант-негативною конструкцією dnERN1 у векторі pcDNA3.1, в яких була повністю пригнічена як кіназна, так і ендорибонуклеазна активності, що було оцінено по пригніченню фосфорилування ERN1 та утворенню альтернативного сплайс-варіанту XBP1 за умов стресу ендоплазматичного ретикулу, індукованого тунікаміцином (10 мкг/мл – 2 години) [20]. Друга сублінія клітин була використана як контроль 2 при вивченні ефекту гіпоксії та дефіциту глюкози або глутаміну на експресію генів *PLK1*, *PLK2*, *PLK3* та *PLK4* у цих клітинах. Для створення третьої сублінії цих клітин клітини гліоми лінії U87 стабільно трансфєкували доміант-негативною конструкцією dnERN1, в яких була повністю пригнічена функція ендорибонуклеази ERN1. В досліді з гіпоксією клітини поміщали у спеціальний інкубатор з 3 % кисню та 5 % діоксиду карбону на 16 годин. Дефіцит глюкози та глутаміну створювали шляхом заміни середовища, в якому була відсутня глюкоза або глутамін (Gibco) і витримували протягом 16 годин.

РНК із клітин гліоми виділяли як описано раніше [20]. Осад РНК промивали 75 % етанолом, розчиняли у воді, вільній від рибонуклеаз, переосаджували етанолом для позбавлення препаратів РНК залишків реагенту Trisol, знову розчиняли у воді і використовували для синтезу комплементарної ДНК.

Рівень експресії генів *PLK1*, *PLK2*, *PLK3* та *PLK4* у клітинах гліоми визначали методом кількісної полімеразної реакції використовуючи „Mx 3000P QPCR” (Stratagene, США) та SYBRGreen Mix (AB gene, Велика Британія). Синтез кДНК проводили за допомогою QuantiTect Reverse Transcription Kit (QIAGEN, Німеччина) згідно протоколу виробника. Для ампліфікації кДНК

PLK1 (polo-like kinase-1; POLO1; serine/threonine-protein kinase 13, STK13) були використані такі праймери: прямий (5'– CACCAAGGTTTTTCGATTGCT –3' та зворотний (5'– TACCCAAGGCCGTACTTGTC –3'). Нуклеотидні послідовності цих праймерів відповідають послідовності 1018 – 1037 та 1327 – 1308 кДНК PLK1 людини (GenBank номер NM_005030). Розмір ампліфікованого фрагмента 310 п.н.з. Ампліфікацію кДНК PLK2 (Polo-like kinase-2; serum-inducible kinase, SNK) проводили за допомогою прямого (5'– AGGGACTCTTGGCAGCTGTA –3') та зворотного (5'– GGCCAAGCTCTGCGTAATAG –3') праймерів, які відповідають послідовності 1530 – 1549 та 1834 – 1815 кДНК PLK2 людини (GenBank номер NM_006622). Розмір ампліфікованого фрагмента 305 п.н.з. Для ампліфікації кДНК PLK3 (Polo-like kinase-3; Cytokine-inducible serine/threonine-protein kinase; Proliferation-related kinase) були використані такі праймери: прямий – 5'– GAGGCGGATGTATGGTCACT –3' та зворотний – 5'– GGTGTCAGGTCTGGGACTGT –3'. Нуклеотидні послідовності цих праймерів відповідають послідовності 818 – 837 та 1107 – 1088 кДНК PLK3 людини (GenBank номер NM_004073). Розмір ампліфікованого фрагмента 290 п.н.з. Ампліфікацію кДНК PLK4 (Polo-like kinase-4; Serine/threonine-protein kinase 18, STK18; Serum activated kinase, SAK) проводили за допомогою прямого 5'– CCACAGACAACAATGCCAAC –3' та зворотного (5'– GCAGATTCCCAAACTACTGT –3') праймерів, які відповідають послідовності 1539 – 1558 та 1724 – 1705 кДНК PLK4 людини (GenBank номер NM_014264). Розмір ампліфікованого фрагмента 186 п.н.з. Ампліфікацію кДНК бета-актину (ACTB) проводили за допомогою прямого – 5'– GGACTTCGAGCAAGAGATGG –3' та зворотного – 5'– AGCACTGTGTTGGCGTACAG –3' праймерів. Нуклеотидні послідовності цих праймерів відповідають послідовності 747 – 766 та 980 – 961 кДНК ACTB людини (GenBank номер NM_001101). Розмір ампліфікованого фрагмента 234 п.н.з. По рівню експресії мРНК бета-актину оцінювали кількість РНК, взятої для аналізу. Праймери були отримані з компанії "Sigma-Aldrich" (США).

Аналіз результатів дослідження експресії генів *PLK1*, *PLK2*, *PLK3* та *PLK4* виконували з допомогою спеціальної комп'ютерної програми "Differential expression calculator" а статистичний аналіз – в Excel програмі. Значення експресії генів *PLK1*, *PLK2*, *PLK3* та *PLK4* нормалізували по рівню експресії бета-актину і представляли у відсотках від контролю (100 %). Представлені середні значення $\pm m$ чотирьох експериментів.

Результати дослідження та їх обговорення. Як видно із даних, приведених на рис. 1, пригнічення функції кіназної та ендорибонуклеазної активностей сенсорно-сигнального ензиму ERN1, основного сигнального шляху стресу ендоплазматичного ретикулу, у клітинах гліоми лінії U87, посилює експресію генів протеїнкіназ *PLK2* та *PLK4*, та знижує експресію генів *PLK1* та *PLK3*, причому ці зміни є більш вираженими для генів *PLK1*, *PLK2* та *PLK4*, у порівнянні з контрольними клітинами гліоми, трансфєкованими вектором pcDNA3.1. Разом з тим, пригнічення лише ендорибонуклеазної активності сигнального ензиму ERN1 не призводить до істотних змін у рівнях експресії всіх генів родини PLK (рис. 1А та 1Б).

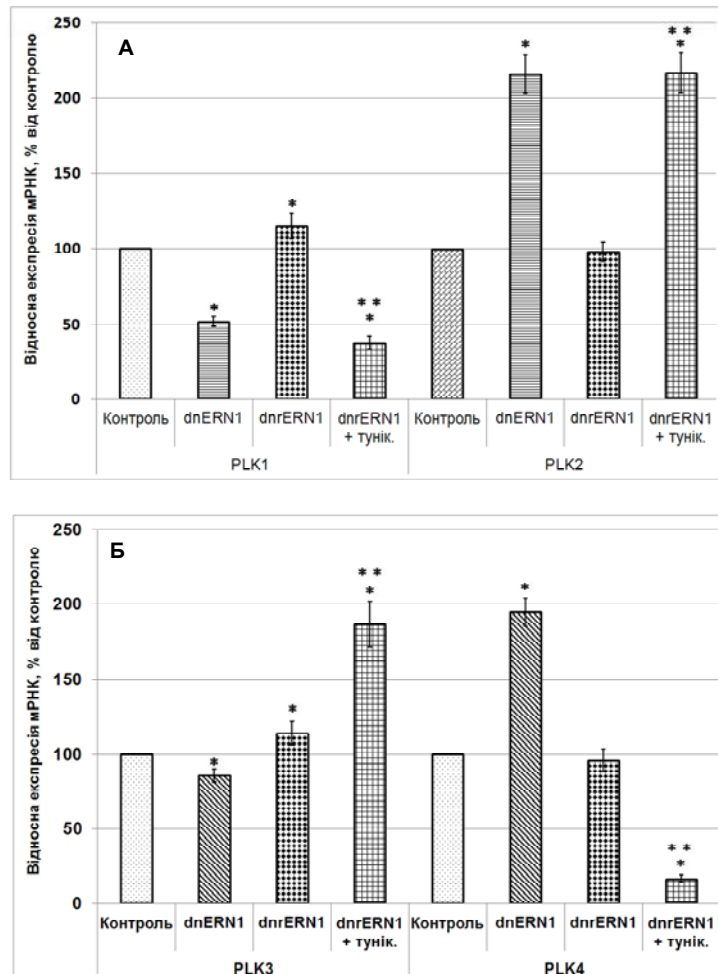


Рис. 1. Рівень експресії генів *PLK1* та *PLK2* (А), а також генів *PLK3* та *PLK4* (Б) у клітинах гліоми лінії U87, трансфєкованих вектором pcDNA3.1 (Контроль) та клітин, стабільно трансфєкованих домінант-негативною конструкцією ензиму ERN1 (dnERN1) або домінант-негативною за ендорибонуклеазною конструкцією ензиму ERN1 (dnrERN1) на основі вектору pcDNA3.1, за даними кількісної полімеразної ланцюгової реакції. Ефект тунікаміцину досліджували у клітинах з dnrERN1. Рівень експресії цих мРНК нормалізували по експресії бета-актину. Зміни в експресії генів *PLK1*, *PLK2*, *PLK3* та *PLK4* у клітинах, трансфєкованих dnERN1, dnrERN1 and dnrERN1 + тунікаміцин порівнювали з контролем (100 %); $n = 4$; * – $P < 0,05$ при порівнянні з контролем, * – $P < 0,05$ при порівнянні з клітинами, трансфєкованими dnrERN1

Оскільки стрес ендоплазматичного ретикулуму опосередковується трьома сенсорно-сигнальними системами (ERN1, PERK та ATF6) [7, 9 – 11], нами були проведені дослідження по вивченню експресії генів родини PLK у клітинах гліоми з пригніченою ендорибонуклеазною активністю ERN1 за умов індукції стресу ендоплазматичного ретикулуму тунікаміцином, з метою виявити можливу роль сенсорно-сигнальних систем PERK та ATF6 у регуляції експресії цих генів. Як видно із даних, приведених на рис. 1, індукція стресу ендоплазматичного ретикулуму тунікаміцином у клітинах з пригніченою функцією ендорибонуклеази викликає виражені зміни в експресії всіх генів родини PLK. Так, рівень експресії гена протеїнкінази *PLK1* зменшується при цьому в три рази, а гена протеїнкінази *PLK4* – майже у 6 разів. В той

же час, рівень експресії генів *PLK2* та *PLK3*, навпаки, істотно збільшується, що свідчить про можливу залежність експресії цих генів від кіназної активності ERN1 і/або інших сенсорно-сигнальних шляхів стресу ендоплазматичного ретикулуму.

Таким чином, збільшення експресії генів *PLK2* та *PLK4*, як і зменшення експресії генів *PLK1* та *PLK3*, не опосередковано ендорибонуклеазною активністю ензиму ERN1, оскільки пригнічення лише ендорибонуклеазної активності ензиму ERN1 не впливає на рівень їх експресії. Можна припустити, що зміни в експресії генів родини PLK, що спостерігаються у клітинах гліоми з пригніченою функцією обох ензиматичних активностей ERN1, можливо опосередковані виключенням саме кіназної активності.

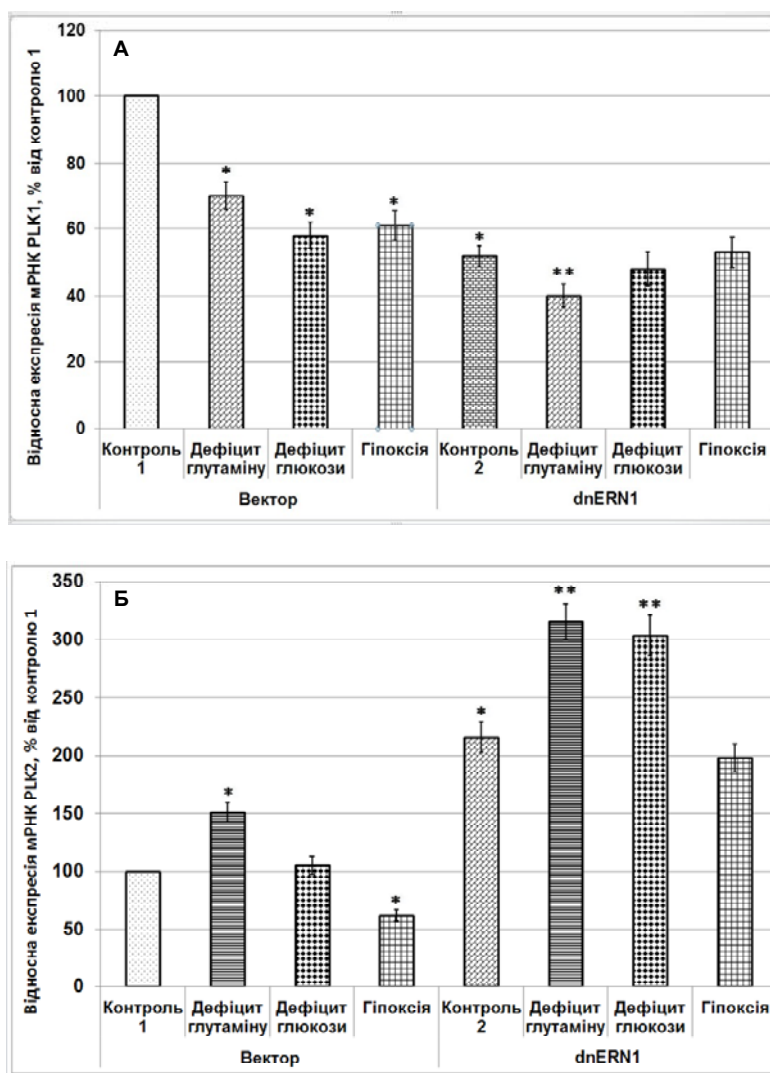


Рис. 2. Ефект гіпоксії та дефіциту глюкози або глутаміну на рівень експресії генів протеїнкіназ *PLK1* (А) та *PLK2* (Б) у клітинах гліоми лінії U87, трансфєкованих вектором *pcDNA3.1* (Вектор) та клітин, стабільно трансфєкованих домінант-негативною конструкцією ензиму *ERN1* (*dnERN1*) на основі вектору *pcDNA3.1*, за даними кількісної полімеразної ланцюгової реакції. Рівень експресії цих мРНК нормалізували по експресії бета-актину. Зміни в експресії генів *PLK1* та *PLK2* у клітинах гліоми за дії гіпоксії та умов дефіциту глюкози чи глутаміну у контрольних клітинах гліоми (Вектор) порівнювали з контролем 1 (100 %), а у клітинах, трансфєкованих *dnERN1*, – з контролем 2; $n = 4$; * – $P < 0,05$ при порівнянні з контролем 1, а ** – $P < 0,05$ при порівнянні з контролем 2.

На рис. 2 та 3 Контроль 1 – це клітини, трансфєковані вектором *pcDNA3.1* а контроль 2 – клітини, трансфєковані *dnERN1*

На рис. 2 та 3 представлені результати дослідження впливу гіпоксії на експресію генів *PLK1*, *PLK2*, *PLK3* та *PLK4* у контрольних клітинах гліоми та в клітинах з повним пригніченням функції сенсорно-сигнального ензиму *ERN1*. Встановлено, що гіпоксія пригнічує експресію генів протеїнкіназ *PLK1*, *PLK2*, *PLK3* та *PLK4* у контрольних клітинах гліоми, але у клітинах з втраченою функцією *ERN1* ефект гіпоксії на рівень експресії генів *PLK1*, *PLK2* та *PLK3* не виявляється, а у випадку з геном *PLK4* – є значно меншим, що переконливо свідчить про залежність гіпоксичної регуляції експресії цих генів від функції сигнального ензиму *ERN1*.

Крім того, було проведено вивчення експресії різних генів родини *PLK* за умов дефіциту глюкози або глутаміну у клітинах гліоми (рис. 2 та 3). Встановлено, що рівень експресії генів *PLK1* та *PLK4* суттєво знижується, а гена *PLK3* збільшується у контрольних клітинах гліоми за умов відсутності у середовищі глюкози, причому збільшення рівня експресії гена *PLK3* спостерігається на такому ж рівні і у клітинах з виключеною функцією сигнального ензиму *ERN1*. Разом з тим, рівень експре-

сії гена *PLK1* у клітинах з пригніченою функцією ензиму *ERN1* не змінюється за умов відсутності у середовищі глюкози, а зниження експресії гена *PLK4* є більш вираженим порівняно з контрольними клітинами гліоми. Більше того, за цих експериментальних умов рівень експресії гена *PLK2* не змінюється у контрольних клітинах гліоми, але істотно збільшується у клітинах з виключеною функцією сигнального ензиму *ERN1* (рис. 2). Ці дані свідчать про істотну залежність рівня експресії генів *PLK1*, *PLK2* та *PLK4* від функції сигнального ензиму *ERN1* за умов дефіциту глюкози. В той же час, за умов відсутності у середовищі глутаміну спостерігається зниження рівня експресії гена *PLK1* і підвищення рівня експресії генів *PLK2* та *PLK3* в обох типах клітин гліоми і суттєво не залежить від функції сигнального ензиму *ERN1* (рис. 2 та 3). Проте, рівень експресії гена *PLK4* за цих експериментальних умов знижується за умов відсутності у середовищі глутаміну у клітинах з повним пригніченням функції сигнального ензиму *ERN1* в значно більшій мірі (у 4 рази) порівняно з контрольними клітинами гліоми (майже вдвічі; рис. 3).

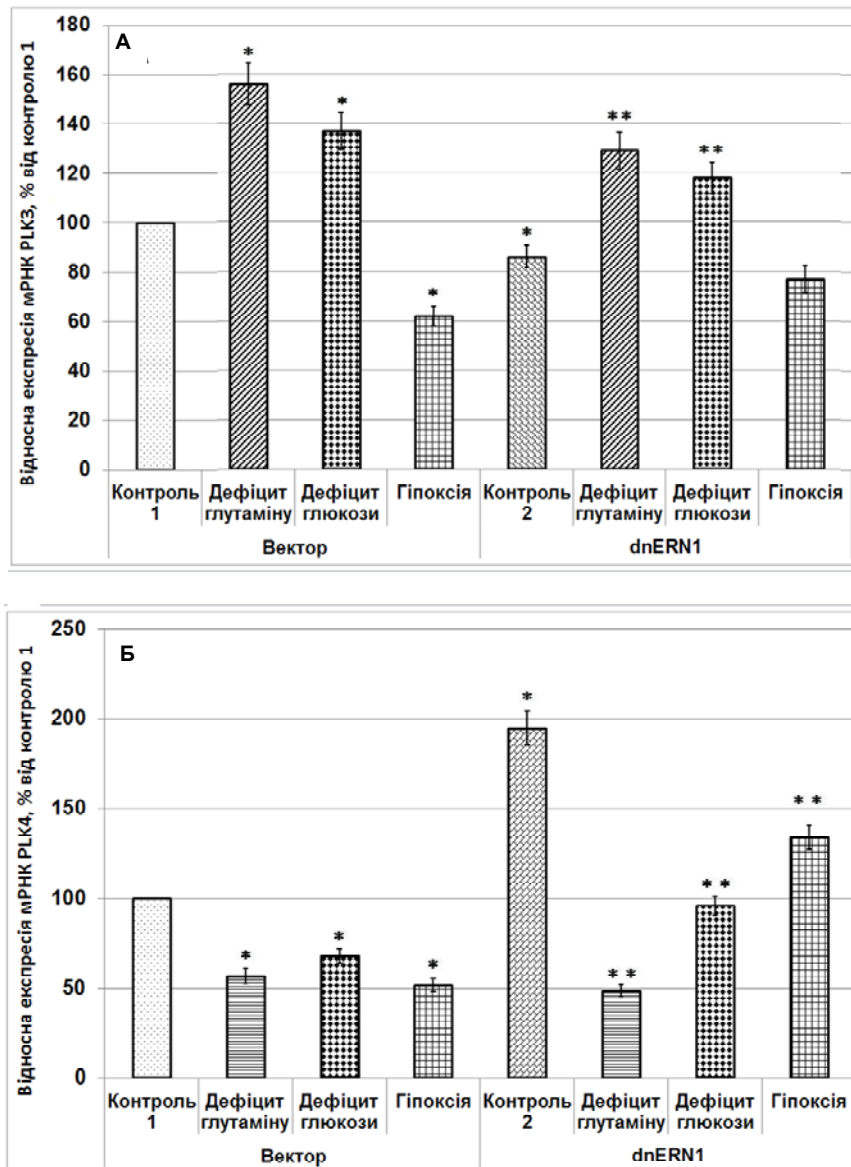


Рис. 3. Ефект гіпоксії та дефіциту глюкози або глутаміну на рівень експресії генів протеїнкіназ PLK3 (А) та PLK4 (Б) у клітинах гліоми лінії U87, трансфєкованих вектором pcDNA3.1 (Вектор) та клітин, стабільно трансфєкованих домінант-негативною конструкцією ензиму ERN1 (dnERN1) на основі вектору pcDNA3.1, за даними кількісної полімеразної ланцюгової реакції. Рівень експресії цих мРНК нормалізували по експресії бета-актину. Зміни в експресії генів *PLK3* та *PLK4* у клітинах гліоми за дії гіпоксії та умов дефіциту глюкози чи глутаміну у контрольних клітинах гліоми (Вектор) порівнювали з контролем 1 (100 %), а у клітинах, трансфєкованих dnERN1, – з контролем 2; $n = 4$; * – $P < 0,05$ при порівнянні з контролем 1, а ** – $P < 0,05$ при порівнянні з контролем 2

Результати цих досліджень продемонстрували залежність експресії всіх генів родини PLK від функціональної активності сигнального ензиму ERN1 у клітинах гліоми лінії U87, а також чутливість їх експресії до гіпоксії та дефіциту глюкози або глутаміну у середовищі. Більше того, виявлене нами суттєве зниження експресії гена *PLK1* та підвищення експресії генів *PLK2* та *PLK4* у клітинах гліоми з пригніченою функцією сигнального ензиму ERN1 повністю узгоджується з пригніченням росту пухлин з цих клітин *in vivo* [17, 18], оскільки надекспресія *PLK1* корелює з посиленою проліферацією клітин і є негативним регулятором TP53 родини, а *PLK2* та *PLK3* задіяні у зупинці проходження клітинного циклу і втрата їх функціональної активності внаслідок мутацій призводять до онкогенної трансформації [1, 3, 5]. Таким чином, зміни в експресії генів серин-треонінових протеїнкіназ родини PLK за умов пригнічення функції сигнального ензиму ERN1 у клітинах гліоми можуть бути

причетними до пригнічення росту пухлин з клітин гліоми без функціонально активного ERN1.

Висновки:

1. Встановлено, що пригнічення обох ензиматичних функцій біфункціонального сенсорно-сигнального ензиму ERN1 (від ендоплазматичного ретикулуму до ядра-1), який є основною сигнальною системою стресу ендоплазматичного ретикулуму, істотно змінює рівень експресії генів, що кодують синтез протеїнкіназ родини PLK (POLO-like кінзи 1-4), у клітинах гліоми лінії U87, але більш виражено генів *PLK1*, *PLK2* та *PLK4*.

2. Показано, що зміни в експресії генів протеїнкіназ *PLK1*, *PLK2*, *PLK3* та *PLK4* не опосередковані ендорибонуклеазною активністю ензиму ERN1, оскільки пригнічення лише ендорибонуклеази ERN1 не впливає істотно на експресію генів родини PLK. В той же час, індукція стресу ендоплазматичного ретикулуму тунікаміцином у клітинах з пригніченою функцією лише ендो-

рибонуклеази викликає виражені зміни в експресії всіх генів родини PLK: в три і більше разів знижується експресія генів *PLK1* та *PLK4*, в той час як рівень експресії генів *PLK2* та *PLK3* істотно збільшується, що свідчить про залежність експресії цих генів від кіназної активності ERN1 і/або інших сенсорно-сигнальних шляхів стресу ендоплазматичного ретикулулу.

3. Встановлено, що гіпоксія пригнічує експресію генів протеїніназ *PLK1*, *PLK2*, *PLK3* та *PLK4* у контрольних клітинах гліоми, але у клітинах з втраченою функцією ERN1 ефект гіпоксії на рівень експресії цих генів відсутній або є значно зменшеним.

4. Показано, що рівень експресії генів *PLK1*, *PLK2* та *PLK4* змінюється за умов дефіциту глюкози у клітинах гліоми і також залежить від функції сигнального ензиму ERN1.

5. Результати досліджень свідчать про залежність експресії генів родини PLK і їх регуляції за умов гіпоксії та дефіциту глюкози у клітинах гліоми лінії U87 від функції сигнального ензиму ERN1, а також можливість регуляції їх експресії іншими сенсорно-сигнальними системами стресу ендоплазматичного ретикулулу.

Список використаної літератури. 1. Kachaner D., Filipe J., Laplantine E. et al. // *Mol. Cell.* – 2012. – Vol. 45, N 4. – P. 553 – 566.

УДК 577.122:591.133.13

Р. Іскра, канд. с.-г. наук

АМІНОТРАНСФЕРАЗНА ТА ДЕГІДРОГЕНАЗНА АКТИВНІСТЬ І ВМІСТ ГОРМОНІВ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ ЗА ДІЇ СПОЛУК ХРОМУ

Досліджували вплив хром хлориду в кількості 200 мкг Cr/л води та хром цитрату, в кількості 50 мкг Cr/л, на активність амінотрансфераз, дегідрогеназ і вміст гормонів в організмі щурів. У крові щурів за дії сполук хрому встановлено зростання концентрації білка, інсуліну, тиреоїдних гормонів та активності аспартатамінотрансферази. У щурів обох дослідних груп виявлено зростання активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази – в легенях, нирках, печінці, селезінці, аланінамінотрансферази – в легенях, серці, селезінці та м'язах, проте зниження – аспартатамінотрансферази у всіх тканинах. Активність лактатдегідрогенази підвищилася у всіх тканинах тварин другої дослідної групи.

Ключові слова: хром, гормони, цукровий діабет, інсулінорезистентність.

Исследовали влияние хром хлорида в количестве 200 мкг Cr / л воды и хром цитрата, в количестве 50 мкг Cr / л, на активность аминотрансфераз, дегидрогеназ и содержание гормонов в организме крыс. В крови крыс при воздействии соединений хрома установлен рост концентрации белка, инсулина, тиреоидных гормонов и активности аспартатаминотрансферазы. У крыс обеих исследовательских групп выявлено повышение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы – в легких, почках, печени, селезенке, аланинаминотрансферазы – в легких, сердце, селезенке и мышцах, однако снижение – аспартатаминотрансферазы во всех тканях. Активность лактатдегидрогеназы повысилась во всех тканях животных второй опытной группы.

Ключевые слова: трехвалентный хром, гормоны, сахарный диабет, инсулинорезистентность.

The influence of chromium chloride in dose of 200 mg Cr / l of water and chromium citrate, in dose of 50 mg Cr / l, the activity of amino transferase, dehydrogenase and hormone content in rats was studied. It were established increasing concentrations of protein, insulin and thyroid hormones and activity aspartate aminotransferase under the action of chromium compounds. The increased activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase – in the lungs, kidneys, liver, spleen, alaninaminotransferase – in the lungs, heart, spleen and muscle, but the decline of aspartate aminotransferase – in all tissues were found in examined tissues of rat of research groups. Activity lactate dehydrogenase increased in all tissues animal second experimental group.

Keywords: chrome, hormones, diabetes, insulin resistance.

Вступ. Тривалентний хром (Cr) має важливе значення для життєдіяльності людини і тварин, підтримання гомеостазу в їх організмі, нормального функціонування вуглеводного, білкового і ліпідного обміну [13]. Цей мікроелемент у складі олігопептиду хромоуліну, посилює дію інсуліну шляхом зв'язування гормону з рецепторами на поверхні клітини [5]. Експериментальні дослідження показали, що хром корисний при лікуванні інсулінорезистентності та цукрового діабету у людей [6]. Він активує ензими і стабілізує білки та нуклеїнові кислоти, сприяє росту і регенерації тканин, підвищує імунітет [18]. Відомо, що тривалентний Cr бере участь у експресії генів, які включаються у процесі передачі генетичної інформації у тварин і людей [13]. Зв'язування Cr з нуклеїновими кислотами сильніше, ніж іонів інших металів [10]. Встановлено, що Cr *in vitro* посилює синтез РНК у тканинах мишей [12]. Він зв'язується з хроматином, викликає збільшене ініціювання локусів і отже, стимулює підвищення синтезу РНК, що пов'язано з індукцією білка в ядрі і ядерною активацією хроматину

2. Rozeboom A.M., Pak D.T. // *Neuroscience.* – 2012. – Vol. 202. – P. 147 – 157. 3. Puklowski A., Homsy Y., Keller D. et al. // *Nat. Cell Biol.* – 2012. – Vol. 13, N 8. – P. 1004 – 1009. 4. Wang J., Beauchemin M., Bertrand R. // *Cell. Signal.* – 2011. – Vol. 23, N 2. – P. 2030 – 2038. 5. Chang Y.C., Wu C.H., Yen T.C., Ouyang P. // *J. Biol. Chem.* – 2012. – Vol. 287, N 6. – P. 4376 – 4385. 6. Franck N., Montembault E., Rome P. et al. // *PLoS ONE.* – 2011. – Vol. 6, N 1. – P. E14600. 7. Acosta-Alvear D., Zhou Y., Blais A. et al. // *Molecular Cell.* – 2007. – 27. – P. 53 – 66. 8. Johnson A. B., Denko N., Barton M. C. // *Mutat. Res.* – 2008. – Vol. 640. – P. 174 – 179. 9. Zhang K., Kaufman R.J. // *J. Biol. Chem.* – 2004. 279, N 25. – P. 25935 – 25938. 10. Aragón T., van Anken E., Pincus D. et al. // *Nature.* – 2009. – 457, N 7230. – P. 736 – 740. 11. Fels D.R., Koumenis C. // *Cancer Biology & Therapy.* – 2006. – 5, N 7. – P. 723 – 728. 12. Moenner M., Pluquet O., Boucheccareilh M., Chevet E. // *Cancer Res.* 2007. – 67, N 22. – P. 10631 – 10634. 13. Hollien J., Lin J.H., Li H. et al. // *J. Cell. Biol.* – 2009. – 186, N 3. – P. 323 – 331. 14. Lee J., Sun C., Zhou Y. et al. *Nature Medicine.* – 2011. – 17, N 10. – P. 1251 – 1260. 15. Zhou Y., Lee J., Reno C.M. et al. *Nature Medicine.* – 2011. – 17, N 3. – P. 356 – 365. 16. Park S.W., Zhou Y., Lee J. et al. *Nature Medicine.* – 2010. – 16, N 4. – P. 429 – 437. 17. Drogat B., Auguste P., Nguyen D.T. et al. // *Cancer Res.* – 2007. – 67. – P. 6700 – 6707. 18. Auf G., Jabouille A., Guérit S. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2010. – 107, N 35. – P. 1555 – 1558. 19. Minchenko D.O., Minchenko O.H. // *Protein Kinases. INTECH.* – 2012. – P. 41 – 62. 20. Minchenko D.O., Kubajchuk K.I., Hubenia O.V. et al. *Adv. Biol. Chem.* – 2011. – 2, N 2. – P. 198 – 206.

Надійшла до редколегії 12.12.12

[11]. Є дослідження, які свідчать, що збагачені хромом дріжджі у раціонах поросят сприяють підвищенню середньодобових приростів зі збільшенням м'язової маси та зниженням вмісту жиру [4]. Однак в інших дослідженнях виявлено, що такі дріжджі не впливають на збільшення продуктивності кроликів і якості їх м'яса [8]. Відповідь організму на дію Cr залежить як від кількості його введення, так і від сполуки, в якій він знаходиться [14]. Cr як добавку до раціонів застосовують у неорганічних і органічних сполуках. Проте, неорганічні сполуки Cr мають нижчий рівень засвоєння цього елемента в організмі, порівняно з органічними сполуками [18]. Крім низького рівня засвоєння в організмі, неорганічна сіль Cr має незначний інтервал між фізіологічним рівнем споживання та його токсичною концентрацією. Так у дослідженнях на перепелах встановлено, що рівень загального білка в сироватці крові був вірогідно збільшений в групі птахів, які споживали хром піколінат в кількості 100 мг/кг, ніж ті, які споживали хром хлорид в кількості 1000 мг/кг. Таку відмінність дії Cr автори пов'я-

зують з вищою біодоступністю органічних джерел хрому, порівняно з неорганічними [9].

Тому метою наших досліджень було з'ясувати вплив хром хлориду та хром цитрату на концентрацію білка і гормонів та активність амінотрансфераз і дегідрогеназ у крові і тканинах щурів.

Матеріали і методи досліджень. Для проведення досліджень було підібрано 15 білих лабораторних щурів самців лінії Вістар, які були розділені на три групи, по 5 тварин у кожній. Щурі перебували у віварії за відповідних умов освітлення, температурного режиму та стандартного раціону. Тварини контрольної групи споживали дистильовану воду. Щурі першої дослідної групи отримували водний розчин хром хлориду в кількості 200 мкг Сг/л води, з розрахунку щоденно спожитої групою щурів води – 100 мл, тобто близько 20 мл на одного, та середньої маси тіла щура – 200 г, кількість спожитого Сг одним щуром становило 4 мкг, або 20 мкг Сг/кг маси тіла. Тварини другої дослідної групи споживали водний розчин хром цитрату в кількості 50 мкг Сг/л, що становило 1 мкг Сг на одного щура або 5,0 мкг Сг/кг маси тіла. Тривалість дослідного періоду 1 місяць. Матеріалом для досліджень була кров і тканини щурів, відібрані при автопсії, яку здійснювали згідно етичних ста-

ндартів. У сироватці крові та гомогенатах тканин легень, серця, мозку, нирок, печінки, селезінки та м'язів визначали вміст білка, активність аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАТ), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) і лактатдегідрогенази (ЛДГ) [2]. Вміст гормонів інсуліну, тироксину і трийодтироніну в сироватці крові визначали імуноферментним методом за наборами "DRG International, Inc." (США). Одержані цифрові дані статистично оброблювали за допомогою програми "Statistica". Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стюдента.

Результати та їх обговорення. У результаті проведених досліджень встановлено зростання вмісту білка в сироватці крові щурів (табл. 1) за дії хром хлориду на 9,4% ($P<0,01$) та хром цитрату на 26,0% ($P<0,001$). Отримані результати досліджень підтверджують дані інших авторів, які встановили збільшення вмісту амінокислот і глюкози в клітинах скелетних м'язів щурів, які інкубували з Сг-піколінатом [7]. Це пов'язано із покращенням їх засвоєння тканинами завдяки дії інсуліну, що стимулюється Сг. Іншими дослідженнями також підтверджено, що добавки Сг посилюють включення амінокислот у білки міокарда щурів [16].

Таблиця 1. Показники білкового обміну в сироватці крові щурів за дії сполук хрому ($M\pm m$, $n=5$)

Показник	Група тварин		
	контрольна	1 дослідна	2 дослідна
Загальний білок, г/л	61,77 $\pm$ 1,16	67,60 $\pm$ 0,71**	77,83 $\pm$ 1,63***
АлАТ, Е/л	61,53 $\pm$ 2,26	64,40 $\pm$ 3,06	63,63 $\pm$ 0,55
АсАТ, Е/л	188,0 $\pm$ 3,67	216,8 $\pm$ 4,54**	203,0 $\pm$ 2,18**

Примітка: у цій і наступних таблицях вірогідні різниці показників дослідних груп порівняно до контрольної: * – $P<0,05$, ** – $P<0,01$, *** – $P<0,001$

Очевидно, вплив Сг на білковий обмін опосередкований анаболічною дією інсуліну, концентрація якого зростає в першій дослідній групі – на 17,6% ($P<0,05$) і другій дослідній групі – на 23,5% ($P<0,05$). Однак не можна виключати й інших механізмів, оскільки відомо, що синтез білків забезпечується амінокислотами, над-

ходження у клітини яких зростає під дією тиреоїдних гормонів. Виявлено, що за дії сполук хрому концентрація трийодтироніну зростає у першій дослідній групі на 12,1%, в другій дослідній групі – на 51,5% ($P<0,05$), а тироксину, відповідно, на 11,0% і 21,0% ($P<0,05$) (табл. 2).

Таблиця 2. Вміст гормонів у сироватці крові щурів за дії сполук хрому ($M\pm m$, $n=5$).

Гормони	Група тварин		
	контрольна	1 дослідна	2 дослідна
Інсулін (мкМО/мл)	3,40 $\pm$ 0,20	4,00 $\pm$ 0,10*	4,20 $\pm$ 0,21*
Трийодтиронін –Т ₃ (нг/мл)	0,33 $\pm$ 0,03	0,37 $\pm$ 0,06	0,50 $\pm$ 0,05*
Тетрайодтиронін –Т ₄ (мкг/дл)	3,00 $\pm$ 0,15	3,33 $\pm$ 0,17	3,63 $\pm$ 0,22*

Важливим біохімічним тестом для оцінки метаболічного стану різних тканин організму є амінотрансферази – ензими, які каталізують реакції переамінування. Різка підвищення активності цих ензимів в крові спостерігається при токсичних станах організму, внаслідок посиленого вивільнення амінотрансфераз з ушкоджених клітин. У наших дослідженнях не виявлено суттєвих змін активності АлАТ в крові щурів, однак встановлено вірогідне зростання активності АсАТ у тварин першої (на 15,3%, $P<0,01$) і другої (на 8,0%, $P<0,01$) дослідних груп (табл. 1), яке не перевищує величину фізіологічної норми. У більшості досліджених тканин щурів активність АлАТ зростає як за дії хром хлориду, так і за дії хром цитрату (табл. 3), відповідно в легенях – на 77,4% ($P<0,001$) і 41,4% ($P<0,001$), серці – на 42,9% ($P<0,001$) і 9,5%, селезінці – на 22,4% ($P<0,05$) і 55,7% ($P<0,01$), м'язах – на 74,8% ($P<0,01$) і 97,9% ($P<0,01$). Однак у нирках активність досліджуваного ензиму знижується в першій дослідній групі на 46,5% ($P<0,001$) і другій – на 29,5% ($P<0,01$), що може визначатися фізіологічною особливістю цього органу.

Зростання активності АлАТ у тканинах свідчить про активацію процесів переамінування у цих тканинах за дії сполук хрому. Очевидно можна припустити, що реакція переамінування аланіну за цих умов протікає інтенсивніше. Це призводить до підвищення утворення глутамату, який є одним з основних елементів системи знешкодження токсичного для організму аміаку. Однак у нирках спостерігається зменшення активності АлАТ, що може бути наслідком інгібування даного ензиму іонами хрому та функціональною особливістю цієї тканини. Крім цього відомо, що АлАТ може використовуватися в якості маркера пошкодження тканини печінки або гепатотоксичності у людей і тварин, а також біомаркера адаптивних реакцій [9]. Однак, досліджуючи вплив добавок Сг не виявлено вірогідних змін активності АлАТ в печінці, що свідчить про нормальний стан білкового обміну у цій тканині. Отже, можна стверджувати, що застосовані рівні неорганічного і органічного хрому в дієті щурів не викликали пошкодження її клітин.

Таблиця 3. Активність аланінамінотрансферази у тканинах щурів за дії сполук хрому, мкМоль/л ($M \pm m$, $n=5$)

Тканина	Група тварин		
	контрольна	1 дослідна	2 дослідна
Легені	0,186 $\pm$ 0,003	0,330 $\pm$ 0,021***	0,263 $\pm$ 0,003***
Серце	0,210 $\pm$ 0,006	0,300 $\pm$ 0,012***	0,230 $\pm$ 0,012
Мозок	0,433 $\pm$ 0,032	0,420 $\pm$ 0,047	0,450 $\pm$ 0,015
Нирки	1,920 $\pm$ 0,133	1,027 $\pm$ 0,059***	1,353 $\pm$ 0,038**
Печінка	0,543 $\pm$ 0,084	0,583 $\pm$ 0,070	0,627 $\pm$ 0,020
Селезінка	0,210 $\pm$ 0,016	0,257 $\pm$ 0,003*	0,327 $\pm$ 0,023**
М'язи	0,143 $\pm$ 0,023	0,250 $\pm$ 0,017**	0,283 $\pm$ 0,026**

Дослідження АсАТ – ключового ензиму обміну речовин, який забезпечує надходження субстратів в цикл трикарбонових кислот (ЦТК), займаючи "центрально" роль у метаболізмі, свідчать про певний вплив Сг на перебіг цих процесів. Значна активність АсАТ забезпечує інтенсифікацію надходження метаболітів у ЦТК і прискорює його роботу, що веде до посилення окисного фосфорилування. У ході нашого дослідження було виявлено зменшення активності АсАТ у всіх досліджуваних тканинах (табл. 4). Це можна пояснити тим, що під дією іонів хрому відбувається посилення синтезу білків, що зменшує вміст вільних амінокислот в організмі – "субстрату" для трансамінування. Крім цього, за дії хрому може змінюватися кількість ензиму під час активації чи гальму-

вання його синтезу на рівні як транскрипції, так і трансляції, а також може змінюватися швидкість його розщеплення. Також Сг може істотно знизити активність готових ензимних молекул, шляхом інгібуючої дії функції активного центру ензиму – піридоксаль 5'-фосфату.

У дослідженнях інших авторів було встановлено зростання АлАТ і АсАТ у тканинах молюсків за дії субтоксичних доз Сг, що за оцінкою дослідників, зумовлено інтенсифікацією трансамінування вільних амінокислот, утворених в результаті протеолізу білків в кетокислоти з метою збільшення виробництва енергії в ЦТК [17]. Очевидно, дія Сг на процеси трансамінування у ссавців і холоднокровних має певні відмінності, що підтверджують результати наших досліджень.

Таблиця 4. Активність аспартатамінотрансферази у тканинах щурів за дії сполук хрому, мкМоль/л ($M \pm m$, $n=5$)

Тканина	Група тварин		
	контрольна	1 дослідна	2 дослідна
Легені	1,98 $\pm$ 0,19	1,17 $\pm$ 0,03**	1,19 $\pm$ 0,06***
Серце	1,83 $\pm$ 0,04	1,25 $\pm$ 0,004***	1,42 $\pm$ 0,10**
Мозок	2,03 $\pm$ 0,006	1,28 $\pm$ 0,02***	1,51 $\pm$ 0,02***
Нирки	2,21 $\pm$ 0,003	1,66 $\pm$ 0,03***	1,75 $\pm$ 0,08**
Печінка	1,33 $\pm$ 0,06	1,12 $\pm$ 0,007**	1,21 $\pm$ 0,07
Селезінка	2,24 $\pm$ 0,02	1,22 $\pm$ 0,02***	1,26 $\pm$ 0,04***
М'яз	2,18 $\pm$ 0,22	1,18 $\pm$ 0,06**	1,24 $\pm$ 0,05**

У результаті досліджень за дії сполук хрому виявлено збільшення активності АлАТ і зменшення активності АсАТ у тканинах щурів. Однак, аналіз одержаних результатів порівняно з даними літератури свідчить про те, що це може відбуватися і навпаки, оскільки, це тонкий механізм, який організм різних видів виконує при посиленні або пригніченні тих чи інших процесів метаболізму, тим самим адаптуючи його до зовнішніх впливів. Продукти переамінування аспарагінової та аланінової кислот – щавелево-октова і α -кетоглутарова кислоти – є в той же час найважливішими ланками окисних перетворень вуглеводів, що відбуваються в процесі дихання. Піровиноградна кислота – найважливіший проміжний продукт, що утворюється при диханні, – також тісно пов'язана з білковим обміном. Завдяки утворенню вуглеводів із продуктів не вуглеводної природи забезпечується відносна постійність концентрації глюкози в крові і безперервне постачання нею тканин, що використовують глюкозу як основний енергетичний субстрат (мозкові тканини, нирки, еритроцити тощо).

Досліджуючи активність ензимів вуглеводного обміну у тканинах щурів встановлено, що активність

NADPH-генеруючого ензиму – глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в тканинах тварин першої та другої дослідних груп була значно вища, порівняно з активністю у тканинах тварин контрольної групи (табл. 5). Зокрема, в легенях, відповідно, на 88,9% ($P<0,01$) і 42,9%, нирках – на 49,1% ($P<0,05$) і 41,4% ($P<0,01$), печінці – на 226,9% ($P<0,001$) і 448,1% ($P<0,001$), селезінці – на 205,4% ($P<0,05$) і 139,2% ($P<0,001$), що свідчить про активацію пентозофосфатного шунту за дії хрому. У клітинах цих тканин організму продукт пентозофосфатного шунту – рибозо-5-фосфат є необхідний для синтезу пуринових нуклеотидів і, відповідно, нуклеїнових кислот. Отже, підтримання активності реакцій шунту на відповідному рівні має істотне значення для забезпечення пластичним матеріалом проліфераційних процесів у клітинах. Крім того, за участю Г-6-ФДГ відновлюються молекули НАДФ, які можуть використовуватись під час синтезу жирних кислот або окиснюватись ензимами дихального ланцюга [1]. Зростання активності ензиму може відбуватися за безпосередньої дії Сг на молекули ензиму, або опосередкованої дії інсуліну чи тиреоїдних гормонів.

Таблиця 5. Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в тканинах щурів за дії сполук хрому, нМольNADPH /хв мгбілка ($M \pm m$, $n=5$)

Тканина	Групи тварин		
	контрольна	1 дослідна	2 дослідна
Легені	1,98 $\pm$ 0,49	3,74 $\pm$ 0,04**	2,83 $\pm$ 0,02
Серце	1,33 $\pm$ 0,07	0,89 $\pm$ 0,02***	0,28 $\pm$ 0,01***
Мозок	1,72 $\pm$ 0,09	0,98 $\pm$ 0,08***	0,35 $\pm$ 0,02***
Нирки	1,69 $\pm$ 0,10	2,52 $\pm$ 0,26*	2,39 $\pm$ 0,10**
Печінка	0,52 $\pm$ 0,05	1,70 $\pm$ 0,20***	2,85 $\pm$ 0,05***
Селезінка	0,74 $\pm$ 0,02	2,26 $\pm$ 0,47*	1,77 $\pm$ 0,14***
М'язи	1,01 $\pm$ 0,01	1,32 $\pm$ 0,32	0,36 $\pm$ 0,02***

Проте дослідженнями встановлено зниження активності Г-6-ФДГ в тканинах тварин дослідних груп стосовно показників контрольної групи, зокрема у мозку – на 43,0% ($P<0,001$) і 79,7% ($P<0,001$), міокарді – на 33,1% ($P<0,001$) і 78,9% ($P<0,001$) та скелетних м'язах – на 64,4% (лише в другій дослідній групі, $P<0,001$). Зниження активності цього ензиму очевидно свідчить про пригнічення інтенсивності протікання ПФШ у цих тканинах за дії сполук хрому. Можливо, що підтримання відповідного рівня NADPH у цих тканинах тварин дослідних груп відбувається за участю іншого ензиму – ізоцитратдегідрогенази. Таку взаємодію висвітлено у роботах інших авторів, зокрема при ішемічному ушкодженні міокарда щурів [10]. Таким чином, можна припустити, що

відновлений NADP⁺ в NADP-ізоцитратдегідрогеназній реакції може бути альтернативним джерелом відновних еквівалентів у разі низької активності ензимів пентозофосфатного шляху. Активність лактатдегідрогенази у тканинах нирок дослідних щурів є вірогідно вищою за впливу хром хлориду та хром цитрату порівняно з контролем, відповідно на 17,4% ($P<0,01$) і 43,8% ($P<0,001$) табл. 6). В інших тканинах активність ензиму вища лише у тварин другої дослідної групи за впливу хром цитрату, зокрема, в легенях на 67,6% ($P<0,001$), серці на 86,6% ($P<0,01$), мозку – на 57,3% ($P<0,05$), селезінці – на 120,2% ($P<0,001$). Це свідчить про те, що Cr, особливо в органічній формі, стимулює зростання активності ЛДГ у клітинах тканин з аеробним типом метаболізму.

Таблиця 6. Активність лактатдегідрогенази в тканинах щурів за дії сполук хрому, нМоль НАД / хв·мг протеїну ($M \pm m$, $n=5$)

Тканина	Групи тварин		
	контрольна	1 дослідна	2 дослідна
Легені	1,02±0,04	1,09±0,08	1,71±0,04***
Серце	0,67±0,17	0,62±0,01	1,25±0,02**
Мозок	0,89±0,15	0,91±0,02	1,40±0,11*
Нирки	1,21±0,05	1,42±0,01**	1,74±0,03***
Печінка	0,91±0,11	1,08±0,14	1,08±0,09
Селезінка	0,94±0,16	0,77±0,18	2,07±0,01***
М'яз	0,94±0,15	0,78±0,04	1,18±0,08

Оскільки відомо, що в клітинах тканин з аеробним типом метаболізму (серце, мозок, нирки) переважають Н-субодиниці ізоензимного спектру ЛДГ, то збільшення її ензиматичної активності в цих тканинах може вказувати на зміщення рівноваги реакції в бік утворення пірувату, що сприяє перетворенню останнього в циклі трикарбонових кислот [15]. Зростання активності ЛДГ у тканинах легень та селезінки свідчить про активацію як аеробних, так і анаеробних шляхів гліколізу в цих тканинах, оскільки є дані, що в них переважають гібридні фракції ізоензимів [3]. У тканинах скелетних м'язів, які прийнято відносити до анаеробних тканин, де швидкість утворення пірувату на шляху гліколізу перевищує швидкість його окиснення в циклі трикарбонових кислот, активність ЛДГ за дії сполук Cr не змінювалась. Отже хром органічної сполуки, очевидно, стимулює активність в основному Н-субодиниці ізоензимного спектру ЛДГ.

Висновки. За впливу неорганічної та органічної сполук Cr в крові щурів виявлено зростання концентрації білка, інсуліну та тиреоїдних гормонів, підвищення активності АсАТ, однак не виявлено вірогідних змін активності АлАТ. У тканинах щурів дослідних груп встановлено зростання активності АлАТ та зниження активності АсАТ, що очевидно, відбувається завдяки адаптаційним механізмам, які проходять в організмі за дії Cr. У той же час за дії сполук Cr відбувається зростання активності Г-6-ФДГ в легенях, нирках, печінці, селезінці та ЛДГ у більшості досліджуваних тканин щурів другої дослідної групи, що свідчить про інтенсифікацію гліколізу та пентозофосфатного шляху перетворення глюкози за дії хрому. Проведені дослідження впливу хром хлориду та хром цитрату на активність амінотрансфераз і дегідрогеназ в організмі щурів свідчать про можливий прямий вплив хрому на активність досліджуваних ензимів шляхом індукції експресії їх генів та опосередкований вплив через ендокринну систему, що слід враховувати при інтерпретації дії Cr. Крім цього, варто вказати на більш дієвіший вплив органічної сполуки хрому порівняно до неорганічної, про що свідчить вірогідне зростання вмісту тиреоїдних гормонів в крові та активності лактатдегідрогенази в тканинах тварин другої дослідної групи. Одержані результати досліджень можуть бути

теоретичною основою для фізіолого-біохімічного обґрунтування можливого використання обох сполук хрому як біогенних добавок.

Список використаної літератури. 1. Гаврилов О. К., Козинец Г. И., Черняк Н. В. Клетки костного мозга и периферической крови. – М., 1985. 2. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. Довідник / Влізло В.В., Федорук Р.С., Ратич І.Б. та ін.; за ред. В.В. Влізла. – Львів, 2012. 3. Унжаков А. Р., Ілюха В. А., Мацук Н. В., Белкин В. В. Роль изоферментов лактатдегидрогеназы в адаптациях млекопитающих Карелии / Экология. Экспериментальная генетика и физиология. // Труды Карельского научного центра РАН. – 2007. – Выпуск 11. – С. 118–126. 4. Amoikou E. K., Fernandez J. M., Southern L. L. et al. Effect of chromium tripicolinate on growth, glucose tolerance, insulin sensitivity, plasma metabolites, and growth hormone in pigs // J. Anim. Sci. – 1995. – V.73. – P.11-23. 5. Cefalu W. T., Hu F.B. Role of Chromium in Human Health and in Diabetes // Diabetes Care. – 2004. – Vol. 27, N 11. – P.2741–2751. 6. Cheng H.H., Lai M.H., Hou W.C., Huang C.L. Antioxidant effects of chromium supplementation with type 2 diabetes mellitus and euglycemic subjects // J. Agric. Food Chem. – 2004. – V.52(5). – P.1385–1393. 7. Evans G.W., Bowman T.D. Chromium picolinate increases membrane fluidity and rate of insulin internalization // Journal of Inorganic Biochemistry. – 1992. – V. 48. – P. 243–250. 8. Lambertini L., Vignola G., Beone G.M. et al. Effects of chromium yeast supplementation on growth performances and meat quality in rabbits. // World Rabbit Science. – 2004. – V. 12, N 1. – P.33–47. 9. Lindblom P., Rafter I., Copley C. et al. Isoforms of alanine aminotransferases in human tissues and serum-Differential tissue expression using novel antibodies // Arch. Biochem. Biophys. – 2007. – V.466. –P.66–77. 10.Okada S., Taniyama M., Ohba H. Mode of enhancement in ribonucleic acid synthesis directed by chromium (III)-bound deoxyribonucleic acid // Journal of Inorganic Biochemistry. – 1982. – V.17. – P. 41–49. 11.Okada S., Susuki M., Ohba H. Enhancement of ribonucleic acid synthesis by chromium (III) in mouse liver // Journal of Inorganic Biochemistry. – 1983. – V.19. – P. 95–103. 12. Okada S., Tsukada H., Tezuka M. Effect of chromium (III) on nuclear RNA-synthesis. // Biological Trace Element Research. – 1989. – V.21. – P. 35–39. 13. Pechova A., Pavlata L. Chromium as an essential nutrient: a review // Veterinarni Medicina. – 2007. – V.52, (1). – P. 1–18. 14. Pei D., Hsieh C. H., Hung Y. J. et al The influence of chromium chloride-containing milk to glycemic control of patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial // Metabolism Clinical and Experimental. – 2006. –V. 55. – P. 923– 927. 15. Quistorff B, Grunnet N. The isoenzyme pattern of LDH does not play a physiological role; except perhaps during fast transitions inenergy metabolism // Aging. – 2011. –Vol.3., No.5. – P.457–460. 16. Roginski E.F., Mertz W. Effects of chromium (III) supplementation on glucose and amino acid metabolism in rats fed a low protein diet // Journal of Nutrition. – 1969. – V. 97. – P. 525–530. 17. Sathyapameshwar K., Ravinder Reddy T., Vijaya Kumar N. Effect of chromium on protein metabolism of fresh water mussel, Lamellidens marginalis // Journal of Environmental Biology. – 2006. – 27(2). – P. 401–403. 18. Vincent J. B. The Nutritional Biochemistry of Chromium(III) – Department of Chemistry The University of Alabama Tuscaloosa, USA, 2007.

Надійшла до редколегії 01.10.12

УДК 577.1: 612.396.22

В. Войтенко, асп., І. Степанець, асп., В. Конопельнюк, канд. біол. наук,
О. Савчук, д-р біол. наук, Л. Остапченко, проф.**ОЦІНКА РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ**

Проведено аналіз основних біохімічних показників сироватки крові щурів за умов моделювання хронічної алкогольної інтоксикації. Встановлено зміни досліджуваних показників сироватки крові, що вказує на суттєві порушення функціонування різних органів та систем організму.

Ключові слова: алкогольна інтоксикація, етанол, сироватка крові.

Проведен анализ основных биохимических показателей сыворотки крови крыс в условиях моделирования хронической алкогольной интоксикации. Установлены изменения исследуемых показателей сыворотки крови, что указывает на существенные нарушения функционирования различных органов и систем организма.

Ключевые слова: алкогольная интоксикация, этанол, сыворотка крови.

The analysis of basic biochemical parameters of blood serum of rats modeling chronic alcohol intoxication. Some changes were studied parameters of serum, indicating significant dysfunction of various organs and body systems.

Keywords: alcohol intoxication, ethanol, serum blood.

Вступ. Алкогольна залежність є хронічним розладом, що викликається рядом генетичних, соціально-психологічних та екзогенних факторів. Медико-соціальне значення проблеми визначається перш за все значною розповсюдженістю вживання алкоголю, що призводить до шкідливих наслідків для здоров'я населення в цілому. Виявлено, що в останні сто років зростання зловживання спиртними напоями випереджає приріст населення [1]. За останніми даними ВОЗ, алкоголізмом уражені від 1 до 10% дорослого населення та летальність у зв'язку з вживанням алкоголю становить 30 % у чоловіків та 17 % у жінок. Зловживання алкоголем, як відомо, сприяє розвитку соматичних і психічних захворювань і прямо або побічно є однією з найважливіших причин смертності населення [2]. Алкоголізм є причиною смерті в стані сп'яніння при захворюваннях серцево-судинної, травної систем, печінки, нирок, при венеричних захворюваннях, травматизмі. Етанол уражає всі органи і тканини організму і викликає розвиток в них патологічних процесів, ускладнює перебіг багатьох захворювань [3]. Отримані за останні роки результати наукових досліджень щодо впливу алкоголю на організм людини та експериментальних тварин, а також продовження роботи у цьому напрямку поповняють і поглиблюють сучасні уявлення про особливості дії етанолу в організмі.

Метою нашої роботи була оцінка розвитку хронічної алкогольної інтоксикації у щурів на основі дослідження ключових маркерів розвитку даної патології.

Матеріали і методи досліджень. Досліди проводили на білих нелінійних щурах обох статей масою 160-200 г з дотриманням нормативів Конвенції з біоетики Ради Європи 1997 року, Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, загальним етичним принципам експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 року), інших міжнародних угод та національного законодавства у цій галузі. Розвиток експериментальної алкогольної інтоксикації у піддослідних

тварин відтворювали за методом [4] шляхом внутрішньошлункового введення 30% етилового спирту з розрахунку 2 мл на 100 г маси тварини. Контрольну групу складали щури, яким у тому ж віці внутрішньошлунково вводили воду, яку використовували для розведення етанолу. Концентрацію глюкози встановлювали за допомогою приладу "ГЛЮКОФОР-II" (Україна) згідно інструкції. Біохімічний аналіз крові (вміст загального білірубину, креатиніну, сечовини, ліпопротеїдів низької щільності (ЛНЩ), ліпопротеїдів високої щільності (ЛВЩ), активність гамма-глутамілтрансπεпτιдази (ГГТ), аланінамінотрансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ), α-амілази) проводили за допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора Microlab 300 (Vital Scientific, Нідерланди). Тварини були розділені на 2 групи: 1 – контрольна група щурів; 2 – група щурів, яким вводили розчин етанолу протягом 11 діб. Для аналізу біохімічних показників відбирали тварин на 1, 3, 7 та 11 доби введення спиртового розчину та на 21 добу від початку введення етанолу. Статистичний аналіз здійснювали за допомогою прикладних програм статистичного аналізу Microsoft Excel. Для оцінки міжгрупових відмінностей застосовували параметричний критерій Ст'юдента. Різницю між показниками вважали статистично значущою при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Лабораторні тести дозволяють об'єктивізувати клінічні дані. Біологічні маркери допомагають отримати додаткову інформацію, необхідну для підтвердження епізоду недавнього вживання алкоголю, хронічної алкогольної інтоксикації, рецидиву алкоголізму [5]. У таблиці наведені основні показники біохімічного аналізу сироватки крові щурів, за якими можна характеризувати функціональний стан організму, та оцінити глибину метаболічних порушень та розвиток експериментальної алкогольної інтоксикації.

Таблиця. Показники біохімічного аналізу сироватки крові щурів за умов розвитку експериментальної алкогольної інтоксикації ($M \pm m$, $n=8$)

	Контроль	1 Доба	3 Доба	7 Доба	11 Доба	21 Доба
Білірубін загальний, мкмоль/л	1,2±0,26	1,8±0,43	2,5±0,18*	2,0±0,54	2,4±0,25*	2,8±0,86*
АЛТ, од/л	27,1±5,08	55,5±10,18*	68,9±9,83*	66,2±10,43*	71,5±8,34*	58,9±2,20*
АСТ, од/л	154,4±11,67	205,5±14,02*	198,3±17,62*	203,6±8,94*	209,2±10,01*	169,7±25,43
ГГТ, од/л	2,7±0,57	2,8±0,50	2,4±0,54	4,0±0,58*	4,9±0,99*	3,3±0,54
α-амілаза, од/л	513,6±87,73	755,8±65,37*	746,6±76,78*	735,6±96,50*	792,7±63,01*	553,6±80,38
Креатинін, мкмоль/л	55,6±4,01	52,4±6,33	51,8±6,27	61,1±4,56	71,1±5,94*	54,7±7,73
Сечовина, ммоль/л	4,12±0,34	6,00±0,64*	6,40±0,33*	6,30±0,86*	7,32±0,54*	8,40±1,08*
ЛВЩ, ммоль/л	0,463±0,054	0,620±0,074*	0,710±0,116*	0,703±0,023*	0,752±0,035*	0,596±0,026
ЛНЩ, ммоль/л	0,170±0,01	0,102±0,03*	0,162±0,02	0,217±0,01*	0,221±0,02*	0,228±0,02*

* – $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою

В клінічній практиці, як маркер алкоголізму, найчастіше використовується активність гамма-глутамілтранспептидази (ГГТ – мікросомальний фермент, який бере участь в обміні амінокислот, каталізує перенесення гамма-глутамілового залишку з пептиду або пептидоподібної речовини, що містить кінцевий глутаматний залишок, на амінокислоту, інший пептид, або іншу субстратну молекулу) [6]. В результаті проведених досліджень нами було показано підвищення рівня ГГТ на 1, 3, 7 та 11 добу та зниження в період абстинентного синдрому. Припускають, що алкоголь є прямим індуктором синтезу ГГТ. Активність ГГТ не підвищується при епізодичному вживанні алкоголю [7]. За даними літератури, зростання рівня ГГТ спостерігається при довгостроковому щоденному вживанні алкоголю [8]. Таким чином, активність ГГТ є маркером систематичного вживання алкоголю, а ізольоване підвищення рівня цього ферменту служить маркером хронічної алкогольної інтоксикації. Зниження рівня ГГТ під час періоду абстинентного синдрому є одним із найбільш специфічних маркерів алкогольної етіології хвороби. Ферменти аспартатамінотрансфераза та аланінамінотрансфераза найчастіше використовуються в діагностиці захворювань печінки [9]. Аспартатамінотрансфераза (АСТ) – фермент із групи трансаміназ, який здійснює перенесення амінокислоти аспартата з однієї біологічної молекули на іншу. Показано зростання активності АСТ під час всього періоду введення спиртового розчину щурів в порівнянні з контрольною групою тварин. Існує цілий ряд патологічних станів, при яких спостерігається підвищення активності даного ферменту, одним із таких станів є алкоголізм. В результаті досліджень за умов експериментальної алкогольної інтоксикації спостерігається підвищення рівня АЛТ на 1, 3, 7 та 11 добу введення спиртового розчину порівняно з контрольною групою щурів. На відміну від АСТ АЛТ у великій кількості міститься в печінці, тому підвищення активності АЛТ з

більшою достовірністю підтверджує пошкодження гепатоцитів. Чутливість амінотрансферазного методу при встановленні факту зловживання алкоголем становить 35% [10]. Спостерігається підвищення вмісту ЛВЩ в сироватці крові щурів з алкогольною інтоксикацією протягом всього експерименту порівняно із контрольними показниками. Такі зміни вмісту даного показника є відповіддю гепатоцитів на дію алкоголю, в результаті якої посилюється етерифікація жирних кислот. Також показано підвищення вмісту ЛНЩ на більш пізні терміни введення 30% етанолу в сироватці крові щурів.

Окрім гострого та хронічного панкреатиту, наявності пухлин чи каміння в підшлунковій залозі, гострій вірусній інфекції гіперамілаземія виявляється при алкогольній інтоксикації. В ході досліджень нами відмічено підвищення α -амілази на 1, 3, 7 та 11 добу введення спиртового розчину, що підтверджує розвиток інтоксикації організму за умов введення етанолу порівняно з контрольними показниками. Також у ході досліджень показано зниження креатиніну та сечовини протягом 11 діб введення розчину етанолу в щурів з експериментальною алкогольною інтоксикацією порівняно з контрольними показниками.

Хронічна алкогольна інтоксикація може спричинити розвиток гіпоглікемічного або гіперглікемічного стану. Порушення толерантності до глюкози пояснюють зниженням поглинання глюкози в печінці, зумовленим її ураженням; відносною функціональною недостатністю β -клітин; зміною чутливості до інсуліну на рівні рецепторів тканин-мішеней. У ході досліджень нами встановлено, що концентрація глюкози в крові тварин контрольної групи коливалася в межах 4,2-6,8 ммоль/л. Показано, що розвиток хронічної алкогольної інтоксикації супроводжувався підвищенням вмісту глюкози в крові щурів натще (рис. 1). Спостерігається зростання вмісту глюкози на 3, 7 та 11 добу в 1,2, 1,6, та 1,3 рази при введенні спиртового розчину в порівнянні з контрольною групою тварин.

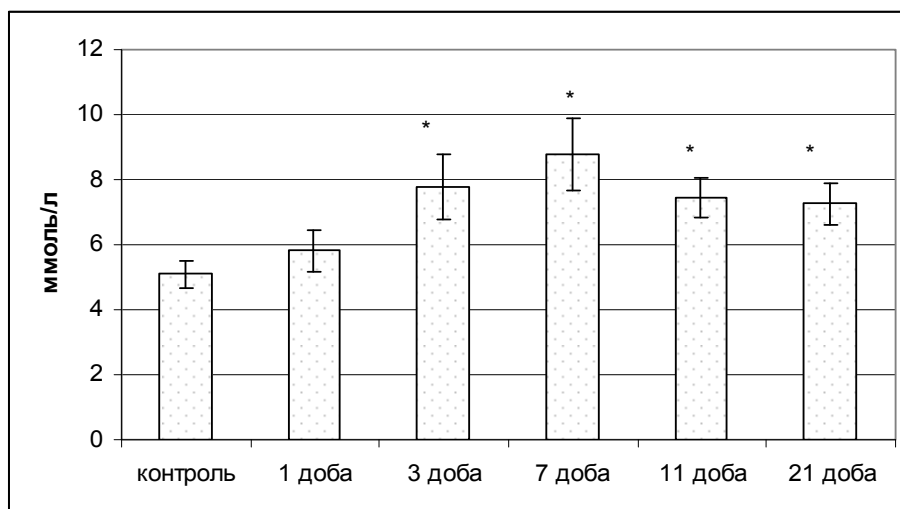


Рис. 1. Концентрація глюкози у сироватці крові контрольних щурів та тварин з експериментальною алкогольною інтоксикацією ($M \pm m$; $n = 8$)

* – $p < 0,05$ різниці достовірні по відношенню до контролю

Таким чином, нами встановлено розвиток гіперглікемії легкої (на 1, 3 добу) та середньої (на 3-11 добу) важкості в тварин з хронічною алкогольною інтоксикацією. Оскільки стан гіперглікемії характерний для розвитку цукрового діабету 2 типу, то доцільним є встановлення основних показників розвитку даної патології за умов експериментальної хронічної алкогольної інтоксикації.

Висновки. Таким чином, встановлені зміни біохімічних показників сироватки крові можуть бути додатковим доказом формування хронічної алкогольної інтоксикації у дослідних тварин. У щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією спостерігається розвиток гіперглікемії, що дає підстави для подальших досліджень маркерів розвитку цукрового діабету 2 типу.

Список використаної літератури. 1. Aparajita Dey, Arthur I. Alcohol and oxidative liver injury // Cederbaum Hepatology. – 2006. – V. 43. – P. 63–74. 2. Лінський І. В., Мінко О. І., Первомайський Е. Б. і др., Прогнозування епідемії залежності від психоактивних речовин в Україні засобами популяційної екології // Новини української психіатрії. – Харків. – 2006. – №3. – 46 с. 3. Дереча Л. М. Алкоголь та його дія на організм: огляд літератури // Вісник Харківського національного університету. – 2007. – Вип. 6. – №788. – С. 7–16. 4. Халилов М. Х., Закиходжаев Ш. Я. К характеристике некоторых патохимических сдвигов в крови, тканях печени и головного мозга при экспериментальной алкогольной интоксикации // Вопросы клиники алкоголизма: Сб. науч. тр., Ташкент. – 1983. – С. 38–41. 5. Hannuksela, M. L., Lisananti, M. K., Nissinen, A. E., & Savolainen, M. J // Biochemical markers of alcoholism. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. – 2007. Vol. 45, P. 953–961. 6. Горюшкин И.И. Алкоголизм: механизмы изменения активности гамма-глутамилтранс-

феразы и аспаратаминотрансферазы и возможность предотвращения жировой инфильтрации печени // Вопр наркол 2001; 1: 60–66. 7. King G.L., Loeken M.R. Hyperglycemia-induced oxidative stress in diabetic complications // Histochem. Cell Biol. – 2004. – Vol. 122, № 4. – P. 333–338. 8. Hemmings S.J., Spafford D. Neonatal STZ model of type II diabetes mellitus in the Fischer 344 rat: characteristics and assessment of the status of the hepatic adrenergic receptors // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2000. – Vol. 32. – P.905–919. 9. Niemelä O., Alatalo P. // Biomarkers of alcohol consumption and related liver disease. Scand J Clin Lab Invest. – 2010 – Vol. 70. (5):305–12. 10. Сирото Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использования его для измерения активности супероксиддисмутазы // Вопросы мед. клин. – 1999. – № 3.

Надійшла до редколегії 01.10.12

УДК 574:64

Б. Серебрянников, студ., В. Гандзюра, д-р біол. наук, М. Алексієнко, інж.

СУМІСНИЙ ВПЛИВ КАДМІЮ І КОЛИВАНЬ СОЛОНОСТІ НА МОЛОДЬ ГУПИ

Встановлено пригнічення ростових і продукційних процесів, а також взаємодії між особинами мальків гупи за сумісного впливу іонів кадмію і коливань солоності. Коливання солоності частково перешкоджають накопиченню кадмію в тілі. Обидва фактори характеризуються доповнюючим впливом на ростові та продукційні показники.

Ключові слова: іони кадмію, коливання солоності, продукційні процеси.

Установлено угнетение ростовых и продуктивных процессов, а также взаимодействия между особями мальков гупы в условиях совместного влияния ионов кадмия и колебаний солёности. Колебания солёности частично препятствуют накоплению кадмия в организме. Оба фактора характеризуются дополняющим влиянием на ростовые и производственные показатели.

Ключевые слова: ионы кадмия, колебания солёности, продукционные процессы.

Depression of growth and production processes, as well as of social interactions in guppy fry under the combined influence of salinity oscillations and cadmium ions was observed. Salinity oscillations partially inhibit cadmium accumulation within the body. Both factors affect growth and production indices additively.

Keywords: cadmium ions, salinity fluctuations, production processes.

Вступ. Відомо, що для організму можна виділити оптимальне значення чинника навколишнього середовища, за якого життєдіяльність особини протікає найкращим чином, а також значення, за яких життєдіяльність поступово згасає в міру віддалення від оптимуму. Крайні значення фактора в такому разі обмежують т. з. діапазон толерантності даного виду до даного фактора [6]. Втім, очевидно, що не дивлячись на вірогідну справедливність закономірностей розвитку організмів за постійних значень факторів середовища, нормою існування більшості видів гідробіонтів є коливання значень цих факторів. Через це залежності стану організму від сталих значень факторів, строго кажучи, неможливо застосувати для оцінки його стану в реальних умовах змінного середовища, за винятком тих організмів, які живуть за відносно постійних чи таких, що повільно змінюються, умов [9].

Ще у 30-40-х рр. XX ст. було відомо, що обмін речовин і активність гідробіонтів підлягає добовим коливанням [4]. Подальші дослідження, які тривають і до теперішнього часу, розширюють коло знань з даної проблеми. Завдяки працям наукових шкіл О.С. Константинова та його послідовників – В.А. Кузнецова і В.Б. Вербицького – класичні уявлення були доповнені концепцією астатичного оптимуму, згідно якої оптимум – не стаціонарний стан середовища, а різноманіття в межах екологічної валентності виду. Вірогідно, перебудова метаболізму і надкомпенсація витрат на адаптацію призводять до надлишкового анаболізму, і, як наслідок, до прискорення росту та розвитку, до оптимізації життєдіяльності організму в цілому [9, 10].

Проблемі впливу коливань факторів зовнішнього середовища з періодом від кількох годин до кількох діб присвячені переважно дослідження, пов'язані із вивченням динаміки популяцій у середовищах, в яких спостерігаються такі коливання [4]. Це приливно-відпливні літоральні зони, естуарії та "вологі території" (wetlands) – марші, мангрові болота тощо. В таких екосистемах амплітуда коливань факторів середовища зазвичай значно перевищує оптимальний діапазон для

організмів, а тому і результати досліджень відображають динаміку популяцій організмів в умовах коливань, загалом несприятливих для розвитку. Відповідні експерименти з поміщення дослідних тварин в умови змінних значень показників навколишнього середовища констатували, що змінний режим є менш оптимальним для організму, аніж постійні значення зовнішніх чинників. Навіть беручи до уваги, що організми в результаті природного добору набули деякої відповідності коливанням в навколишньому середовищі, така відповідність все ж вважається компромісом між пристосованістю і здатністю виживати [6].

Важливо, що дослідження впливу факторів зовнішнього середовища на організм і його стресових станів проводять головним чином за впливу одного чинника. В літературі практично відсутні відомості щодо оцінки функціонального стану організму за сумісної дії кількох чинників зовнішнього середовища. Що стосується сумісного впливу коливань різних чинників, то, за певними даними (Константинов, усне повідомлення), такі експерименти проводилися, але їх результати не отримали коректної інтерпретації і тому не були опубліковані.

Оскільки важкі метали, зокрема кадмій, залишаються одними із найпоширеніших забруднювачів у водних екосистемах, надзвичайно важливо з'ясувати їхній вплив на живі організми у взаємодії з іншими факторами середовища.

Метою роботи було оцінити показники продукції і взаємодії між особинами мальків гупи за впливу іонів кадмію, коливань солоності та за сумісного впливу цих чинників.

Матеріали і методи. В дослідженні було використано 120 мальків гупи *Poecilia reticulata* Peters 1-2 місячного віку, одержаних з одного потомства. Риб було розподілено на 4 групи. В першій – контрольній – риб утримували у прісній воді без додавання кадмію. У другій групі солоність змінювали кожні 3 доби шляхом повної заміни води із солоністю, що становила 0‰ та 5‰ NaCl поперемінно. У воду, в якій утримували риб третьої групи, додавали 0,01 мг/л (2 ГДК_{пр}) Cd²⁺, пригото-

ваного зі стандартного розчину CdCl_2 концентрацією 1 г Cd^{2+} /л. Четверту групу риб піддавали одночасному впливу іонів кадмію і коливань солоності (коливання солоності і концентрація Cd^{2+} відповідали описаним вище). В усіх групах повну заміну води проводили кожні 3 доби. Період освітлення становив 12 год. До 1 акваріуму об'ємом 10 л поміщали 10 особин. Досліди виконано у 3 повторах. Тривалість експерименту 21 доба.

Наприкінці експерименту в мальків визначали абсолютну довжину тіла L , стандартну довжину тіла l і найбільшу висоту тіла H відповідно до загальних рекомендацій, даних у [10]. Заміри проводилися під бінокулярним мікроскопом МБС-9 за допомогою окулярного мікрометра.

Масу риб вимірювали на лабораторних терезах 4-го класу (ГОСТ 24104-1988). Вимірювання проводили наступним чином: у хімічну склянку набирали 50 мл води, зважували її, потім сачком відловлювали одну особину з акваріума, опускали сачок з мальком на фільтрувальний папір для попередження потрапляння додаткової води у склянку і поміщали малька із сачка у хімічну склянку із водою. Зважували її, і масу малька обчислювали як різницю мас склянки з водою і мальком і склянки лише з водою.

Суху масу визначали як частку маси риби після її висушування протягом 24 год. за 105°C у сушильній шафі від сирої маси риби.

Добовий приріст маси визначали як різницю маси особини наприкінці експерименту і середньої маси мальків даної групи на початку дослідів, віднесену до кількості діб. Питомий добовий приріст визначали як відношення приросту маси до маси особини риби наприкінці періоду [8].

Питому швидкість росту визначали за формулою [6]:

$$g = \frac{\ln m_2 - \ln m_1}{t},$$

де m_1 – середня маса тіла малька на початку періоду, m_2 – маса тіла малька наприкінці періоду досліджень, t – тривалість періоду.

Калорійність тіла визначали шляхом дихроматного окиснення. Для цього 10 мг сухої тканини розтирали з 50 мг прожареного піску, поміщали до колби і додавали 20 мл дистильованої води. Далі визначення проводили за загальноприйнятою методикою [8]. Контролем слугу-

вали 50 мг прожареного піску, поміщених у 20 мл дистильованої води. Результат виражали в мг O_2 , необхідних для окиснення тіла риби.

Для визначення вмісту кадмію в тілі риб брали по 20 мг сухої тканини і розчиняли в концентрованій азотній кислоті протягом доби. Після цього проби кип'ятили на піщаній бані з додаванням 35% розчину перекису водню до знебарвлення вмісту посудини. Проби упарювали і розводили дистильованою водою до 3 мл. В отриманих розчинах визначали концентрацію Cd атомно-адсорбційним методом.

Для оцінки показників взаємодії між особинами мальків поміщали у пластикові лотки розміром 20×30 см з рівнем води 3 см. Після 30 хв акліматизації проводили відеофіксацію їх поведінки протягом 15 хв. Тип і тривалість взаємодій кожної особини з іншими фіксували за допомогою програми EthoLog 2.2.5. Взаємодії були розподілені на дві групи: паралельні орієнтації і інші. Показники взаємодії обчислювали відповідно до [2, 3]. Повну тривалість взаємодії обчислювали як відсоток сумарного часу всіх взаємодій особини від загального часу спостереження. Розраховували середню тривалість одного акту паралельної взаємодії. Для визначення середньої відстані до найближчого сусіда з отриманих відео було зроблено знімки екрану з інтервалом у 30 сек. На кожному окремому зображенні за допомогою програми UTHSCSA Image Tool for Windows 3.00 визначали відстані від точки, розташованої по середині однієї особини до найближчої аналогічної точки іншої особини.

Під час статистичної обробки даних спочатку перевіряли гіпотезу про нормальність розподілу за допомогою тесту Шапіро-Уїлка. В разі нормального розподілу статистичне порівняння показників різних груп проводили з використанням t -критерію Стюдента для незалежних вибірок. В іншому випадку, застосовували непараметричний тест Краскелла-Уолліса (аналог U -тесту Манна-Уїтні для порівняння 3 і більше вибірок). Усі розрахунки здійснювали у програмних комплексах Excel ("Microsoft") та STATISTICA 8.0 ("StatSoft").

Результати та їх обговорення. Для оцінки характеру взаємодії досліджуваних факторів було визначено вміст Cd в тілі риб в різних дослідних групах (рис. 1).

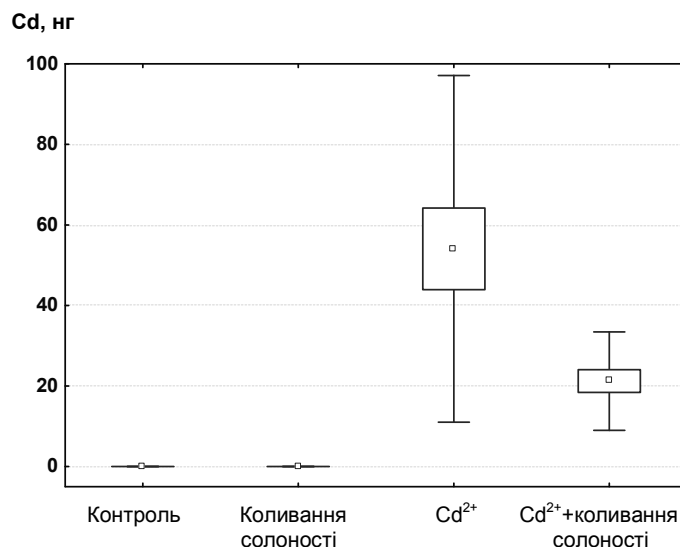


Рис. 1. Вміст Cd в тілі мальків гупі в різних дослідних групах (середнє значення $\pm$ стандартне відхилення; вміст у групах з ненульовими значеннями статистично значимо відрізняється)

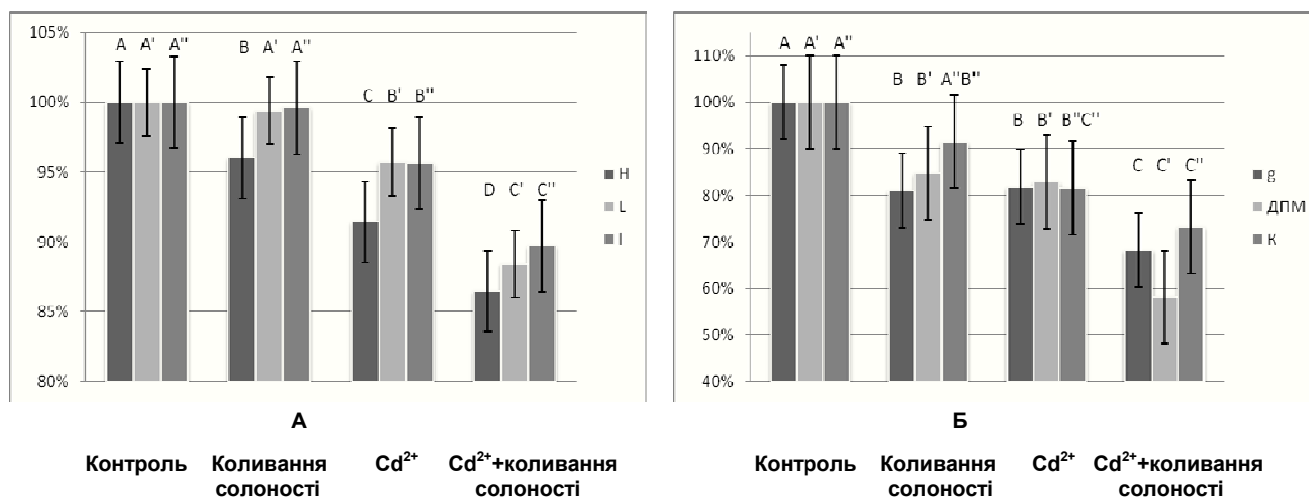


Рис. 2. Рости (А) і продукційні (Б) показники мальків гупі в різних дослідних групах (середнє значення $\pm$ стандартне відхилення; середні, які не мають статистично значимих відмінностей, відмічені однаковими буквами. Н – найбільша висота тіла, L – абсолютна довжина тіла, I – стандартна довжина тіла, g – питома швидкість росту, ДПМ – добовий приріст маси, К – калорійність тіла. Всі значення наведені у відсотках від контролю)

Середнє значення вмісту кадмію в тілі мальків, яких утримували за сумісного впливу іонів важкого металу і коливань солоності, майже вдвічі менше від вмісту кадмію в тілі мальків, яких утримували лише за впливу кадмію. Це свідчить про те, що взаємодія досліджуваних факторів носить антагоністичний характер. Можливим поясненням є те, що кадмій надходить в організм риб переважно через кальцієві канали, які, як відомо з [5], блокуються при підвищенні солоності.

Результати вимірів ростових і продукційних показників наведені на рис.2 (А і Б відповідно). Спостерігається загальна тенденція зниження ефективності росту і накопичення біомаси як за поодиноким впливом досліджу-

ваних факторів, так і за їх сумісного впливу. При цьому коливання солоності і іони кадмію характеризуються адитивною дією на показники росту і продукції. За умов коливань солоності витрачається енергія на роботу механізмів іонної регуляції [9]. Під впливом кадмію порушується робота ферментних систем і відбувається інтоксикація комплексами кадмію із біоактивними лігандами [1, 7], також кадмій частково замінює кальцій у кістковій тканині, що є критичним для розвитку мальків. До того ж, частина енергії витрачається на роботу неспецифічних механізмів стресу, що також пригнічує ріст і розвиток. За сумісного впливу обох факторів, ймовірно, відбувається сумація енергетичних витрат.

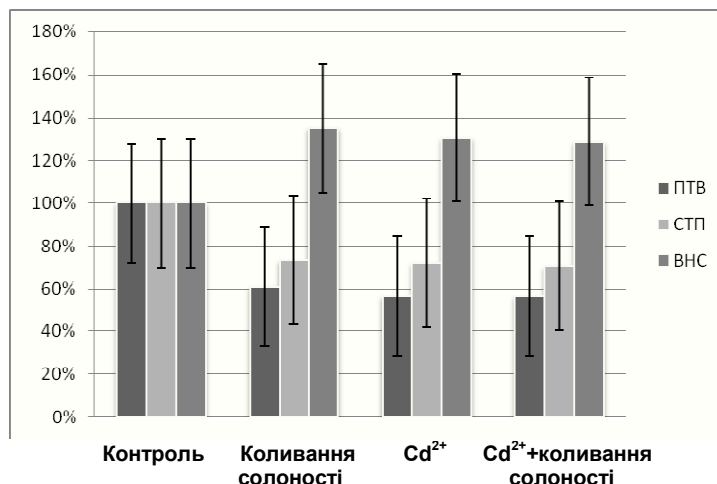


Рис. 3. Взаємодія між особинами гупі в різних дослідних групах (середнє значення $\pm$ стандартне відхилення; статистично значимо відрізняються від інших тільки контрольні значення. ПТВ – повна тривалість взаємодії, СТП – середня тривалість одного акту паралельної орієнтації, ВНС – відстань до найближчого сусіда. Всі значення наведені у відсотках від контролю)

Показники соціальної взаємодії між особинами є чутливими до негативних зовнішніх впливів і важливі для прогнозування соціальної поведінки риб *in vivo*, яка опосередковує ефективність полювання на жертв і уникнення поїдання іншими хижаками [2, 3]. Повна тривалість взаємодії, середня тривалість одного акту паралельної орієнтації і відстань до найближчого сусіда у досліджених особин гупі наведені на рис. 3.

У порівнянні з контролем, в усіх групах зменшується загальна тривалість взаємодії між особинами і тривалість одного акту паралельної орієнтації. Разом зі збільшенням відстані між особинами це вказує на порушення соціальної структури групи. Ймовірно, дана ситуація є наслідком зменшення доступної для використання енергії в результаті описаних вище процесів і специфічних фізіологічних порушень, які вплинули на

поведінку. Втім, на протидію впливові на продукційні показники, сумісний вплив іонів кадмію і коливань солоності на показники взаємодії між особинами не характеризується адитивністю. Оскільки фізіологічні механізми формування соціальної поведінки у риб знаходяться ще у стані вивчення, можна лише зробити припущення, що всі досліджувані фактори просто знизили кількість і якість взаємодій до певного критичного рівня.

Висновки. Сумісний вплив іонів Cd^{2+} і коливань солоності справляє адитивний вплив на ростові і продукційні показники молоді гупі, знижуючи рівень доступної для цих процесів енергії. Сумісний вплив зазначених факторів порушує взаємодію всередині соціальних груп гупі.

Подяки. Ми вдячні Лукашову Д.В., д.б.н., зав. каф. екології та охорони навколишнього середовища, за проведення атомно-адсорбційної спектрофотометрії зразків і за консультації з приводу інтерпретації даних.

УДК 575:581.144.2:581.133.8:582.683.2

Список використаної літератури. 1. Environmental Stressors in Health and Disease / Ed. by Fuchs J., Packer L. – New York, 2001. 2. Saverino, C., Gerlai R. The social zebrafish: behavioral responses to conspecific, heterospecific, and computer animated fish // Behavioural brain research. – 2008. – 191(1). – P. 77-87. 3. Scott G.R., Sloman K.A. The effects of environmental pollutants on complex fish behavior: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity // Aquatic Toxicology. – 2004. – 68. – P. 369-392. 4. Wheatly M.G. Integrated Responses to Salinity Fluctuation // Amer. Zool. – 1988. – 28. – P. 65-77. 5. Zhang L., Wang W.X. Waterborne cadmium and zinc uptake in a euryhaline teleost *Acanthopagrus schlegelii* acclimated to different salinities // Aqua Toxicol. – 2007. – 84(2). P. 173-181. 6. Гандзюра В.П. Продуктивність біосистем за токсичного забруднення середовища важкими металами. – К., 2002. 7. Давыдова С.Л., Тагасов В.И. Тяжелые металлы как супертоксиканты XXI века. – М., 2002. 8. Заика В.Е. Сравнительная продуктивность гидробионтов. – К., 1983. 9. Константинов А.С. Статический и астатический оптимум абиотических факторов в жизни рыб // Первый конгресс ихтиологов в России: Тез. докл. – 1997. – С. 221-222. 10. Кузнецов В.А. Оптимизация эмбрионально-личиночного развития пойкिलотермных гидробионтов в астатических условиях среды // Тез. докл. IV междунар. конф. "Современные проблемы гидроэкологии". – СПб, 2010. – С. 98.

Надійшла до редколегії 02.10.12

Я. Абдуллаєва, студ., С. Хаблак, канд. біол. наук

ВИДОЗМІНА КОРИННЯ У КОРЕНЕВІЙ СИСТЕМІ *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH. ПІД ВПЛИВОМ МУТАЦІЙ ГЕНІВ *COB1*, *LIT1* І *SAB1*

Встановлено, що мутації *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* викликають у рослин *Arabidopsis thaliana* потовщення і вкорочення довшини бічного і додаткового коріння. В результаті у мутантних ліній *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* формується не типово коріння у вигляді корневих шишок, які утворюються внаслідок метаморфозу бічного і додаткового коріння.

Ключові слова: коренева система, мутація генів, мікрофібрили.

Установлено, что мутации *cob-1*, *lit-1* и *sab1-1* вызывают у растений *Arabidopsis thaliana* утолщение и уменьшение длины бокового и придаточных корней. В результате мутантных линий *cob-1*, *lit-1* и *sab1-1* формируются не типичные корни в виде корневых шишек, образующиеся в результате метаморфоза бокового и придаточных корней.

Ключевые слова: корневая система, мутация генов, микрофибрилы.

Found that mutations in *cob-1*, *lit-1* and *sab1-1* cause the plant *Arabidopsis thaliana* thickening and shortening of the length of lateral and adventitious roots. As a result, the mutant lines, *cob-1*, *lit-1* and *sab1-1* not the typical formed roots in the form of root buds which are formed by the metamorphosis of lateral and adventitious roots.

Keywords: the root system, the mutation of genes mikrofibrily.

Вступ. Типову будову мають коріння більшості рослин, але у багатьох видів у процесі еволюції коріння помітно видозмінилося. В одних випадках коріння спеціалізувалося у зв'язку з пристосуванням до виконання функції вмістилища запасних речовин, вегетативного розмноження або втягування рослини в ґрунт (геофілізація). В інших випадках першорядне значення мало пристосування до певного середовища проживання (болото, вода, слабоаеровані ґрунти та ін.) [8]. У філогенії покритонасінних рослин з'явилися такі незвичайні органи, як ходувальні, досковидні, дихальні, повітряні корені, коренеплоди, кореневі бульби, корені-підпірки і корені-прицепки. Ці нетипові органи є метаморфозами, або видозмінами, кореня [7]. Виникнення метаморфозів кореня у рослин в процесі еволюції мало характер мутацій, тому вони закріпилися спадково. Розуміння механізмів формування у рослин різних видозмін кореня є однією з актуальних проблем генетики розвитку. Рослинна клітина на відміну від тваринної зовні покрита твердою оболонкою (стілкою). Функції оболонки багатогранні. Вона додає клітці певну форму, захищає її вміст від фізичних та механічних впливів, забезпечує надходження речовин у клітину, в тому числі регулює ступінь і напрямку росту клітини [1]. Процеси росту стінки клітки здійснюються шляхом утворення і впровадження між старими нових частинок. Такий спосіб наростання оболонки клітини називають інтусусцепцією [4]. Він був досить добре досліджений за допомогою електронного мікроскопа ще більш півстоліття тому. Проте, до цих пір залишається дуже мало відомо про молекулярні механізми, що контролюють характер росту клітин. У той же час, розуміння того, як клітинна стінка росте, має важливе значення для функціонування рослини, так як

процеси біосинтезу оболонки і її наростання є вирішальними факторами для утворення форми її органів. Хімічну основу оболонки клітини становить целюлоза (клітковина). Вона відноситься до складних вуглеводів – полісахаридів. Основною структурною одиницею целюлози є мікрофібрила. Мікрофібрили мають форму прямих паличок, які об'єднуються в фібрили. Кожна фібрила складається зазвичай із 400 мікрофібрил [8]. Вважають, що характер розташування мікрофібрил в клітинній оболонці визначає напрямку росту клітини [16]. Існують докази того, що в процесі росту клітини відкладення мікрофібрил в клітинній стінці орієнтоване таким чином, щоб керувати її властивостями. Це в свою чергу обумовлює напрямку росту і остаточну форму клітини та органів рослини [13]. Тим не менш, механізми, що лежать в основі регулювання орієнтації мікрофібрил в оболонці клітини, залишаються в основному невивченими. Крім того, дуже мало відомо про їх генетичний контроль, який в свою чергу визначає орієнтацію та ступінь росту клітини. Порівняно недавно у рослин *Arabidopsis thaliana* (*A. thaliana*) отримані мутації, що викликають аномальний поперечний ріст клітин кореня, що тягне за собою різке збільшення діаметру коріння [10]. Це мутації генів *COBRA1* (*COB1*) [14], *LION'S TAIL1* (*LIT1*) [19] і *SABER1* (*SAB1*) [9]. Ген *COB1* кодує білок GPI (glycosyl-phosphatidyl inositol-anchored protein), який бере участь в утворенні стінок клітин кореня шляхом регулювання орієнтації в них субмікроскопічних целюлозних мікрофібрил, які армують різні вуглеводи і пектинові речовини [15]. Мутація *cob-1* по гену *COB1* викликає у рослин в оболонках клітин кореня порушення характеру розташування мікрофібрил [12]. Ген *LIT1*, відомий так само як *RADIALLY SWOLLEN2* (*RSW2*) або

KORRIGAN1 (KOR1), контролює каталітичну субодиницю целлюлозосінтази енд-1,4- β -D-глюконази (endo-1,4- β -D-glucanase (EGase)) ферментного комплексу розетки, бере участь у біосинтезі целюлози клітинної стінки [17]. Мутація *lit-1* в цьому гені призводить у рослин до дефектів в мультимерному комплексі ферментів розетки, що порушує синтез полісахаридних компонентів оболонки клітини, знижує кількість мікрофібрил целюлози в ній і утворює абerratну її стінку [11]. Ген **SAB1** кодує білок SAB, що перешкоджає дії етилену в радіальному розширенні клітин кореня [18]. Мутація *sab1-1* в гені **SAB1** обумовлює в рослині зміну напрямку росту клітин з поздовжнього на поперечний, що призводить до зменшення їх довжини і потовщення кореня [10]. Відомо, що різні варіанти потовщення частин кореня є метаморфозами кореня. Найчастіше спостерігається сильне потовщення головного кореня, бічного і додаткового коріння. У цих випадках корінь поряд з виконанням основних функцій перетворюється на орган, запасуючий поживні речовини. До таких видозмін кореня відносяться коренеплоди і кореневі бульби [7]. Скоріш за все, під проявом мутацій *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* у рослин арабідопсису відбувається видозміна коріння. Вочевидь, що для подібних тверджень потрібні додаткові дослідження впливу мутацій генів **COB1**, **LIT1** і **SAB1** на будову коріння. Тому метою роботи було вивчити особливості морфології кореневих систем у рослин мутантних ліній *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1*, несучих мутації в генах **COB1**, **LIT1** і **SAB1**, відповідно.

Матеріали і методи. Матеріалом для досліджень слугували рослини *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. екотипу (раси) Columbia – Col-O (дикий тип) і мутантних ліній *cobra-1* (*cob-1*), *lion's tail-1* (*lit-1*) і *saber1-1* (*sab1-1*). Насіння мутантних ліній були отримані з Ноттінгемського центру зразків арабідопсису (Nottingham Arabidopsis Stock Centre (NASC), UK). Рослини вирощували в асептичній пробірковій культурі на агаризованому живильному середовищі Кнопа, збагаченому мікроелементами [2]. Живильну суміш розливали в пробірки розміром 14x120 мм і закривали їх щільними ватяними пробками. Насіння до посіву готували шляхом яровизації протягом 5 діб при температурі 4-6° С і подальшого однодобового пророщування при кімнатній температурі. Пробірки для оберігання від нагрівання та попадання світла на коріння рослин обгортали двома шарами паперу. Після посіву насіння пробірки накривали поліетиленовою плівкою. Знімали поліетиленову плівку при досягненні сім'ядольних листків її поверхні. Рослини культивували при температурі 18-20° С, освітленість цілодобова в межах 4000-7000 лк. При проведенні спостережень за

рослинами керувалися загальноприйнятими методиками вегетаційних та порівняльно-морфологічних досліджень [3, 6]. Фази розвитку і росту рослин розрізняли за зовнішніми ознаками. Під час фенологічних спостережень відзначали початок фази (коли в неї вступить 10-15% рослин) і повну фазу (70-75% рослин) [6]. Обсяг вибірки у раси Col-O та мутантних ліній *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* складав по 30 рослин. Облік кількості коріння і їх товщини в кореневих системах у рослин екотипу Col-O та досліджуваних мутантних ліній проводили у фазах другої пари справжніх листків, бутонізації та цвітіння. Довжину коріння вимірювали за допомогою електронного штангенциркуля типу ШЦЦ-1. Товщину коріння визначали під мікроскопом типу МБС-9. Математичну обробку результатів проводили за методами, описаними Б.А. Доспеховим [3] і Г.Ф. Лакініним [5].

Результати та їх обговорення. В результаті досліджень встановлено, що будова кореневих систем у мутантних ліній *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* зовні принципово відрізняється від вихідної раси Col-O, оскільки у рослин під впливом рецесивних алелів *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* відбувається потовщення коріння. При цьому вони стають м'ясистими, що обумовлено особливостями мутацій *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* викликати порушення в радіальному зростанні клітин коріння. Це є причиною у рослин мутантних ліній *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* різкої зміни будови коріння і видозміни всієї кореневої системи. При детальному вивченні морфології кореневих систем у рослин ліній *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* у відповідності з походженням ми розгледіли три групи коріння: головний, бічні і додаткові. Додаткове коріння розташовується на початку організації пагону на гіпокотилі, а бічне коріння знаходиться як на головному, так і на додатковому корінні. На відміну від головного кореня бічні і додаткові коріння різко потовщені. Порівняльне дослідження кореневих систем у вихідній раси Col-O і мутантних ліній *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* дозволило виявити у них суттєві відмінності по довжині і товщині бічного і додаткового коріння. У табл. 1 узагальнені результати досліджень в порівнянні довжини і товщини коріння кореневих систем у раси Col-O і мутантних ліній *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* в фазу другої пари справжніх листків. У цих мутантних ліній кореневі системи різко відрізняються від екотипу Col-O по характеристиці середніх значень ознак коріння. З даних табл. 1 видно, що рослини ліній *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* мають більшу товщину бічного і додаткового коріння, ніж початкова раса Col-O. Крім того, для рослин досліджуваних ліній характерна менша довжина головного, бічного і додаткового коріння у порівнянні з диким типом Col-O.

Таблиця 1. Середні значення біометричних параметрів (довжини і товщини) коріння кореневих систем у екотипу Col-O і мутантних ліній *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* в фазу другої пари справжніх листків (на 10 день після проростання насіння)

Позначення лінії і назва статистики	Назва коріння					
	головний корінь		додаткові корені		бічне коріння головного кореня	
	довжина коріння, мм	товщина коріння, мкм	довжина коріння, мм	товщина коріння, мкм	довжина коріння, мм	товщина коріння, мкм
WT (Col-O)	10,8±0,3	113,0±0,2	4,4±0,5	80,0±1,7	3,3±0,1	100,0±1,3
<i>cob-1</i>	6,2±0,1	124,5±0,4	1,9±0,2	352,0±1,1	1,8±0,3	338,0±1,5
<i>lit-1</i>	5,4±0,4	123,5±0,1	1,7±0,1	253,0±0,8	1,9±0,2	251,0±1,2
<i>sab1-1</i>	5,7±0,2	121,9±0,2	1,9±0,3	264,0±0,3	1,9±0,1	254,0±1,4
Найменша суттєва різниця при 5% рівні значущості (НСР ₀₅), міліметри (мм)/мікрометри (мкм)	1,39	13,20	0,97	28,98	0,46	24,75

Звертає на себе увагу те, що у мутантних ліній *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* кореневі системи значно відрізняються між собою по товщині бічного і додаткового коріння. Слід зазначити, що найбільший діаметр бічного і додаткового коріння формують рослини мутантної лінії *cob-1*, а найменший – рослини мутантної лінії *lit-1*.

Як відомо, у багатьох однодольних і дводольних рослин часто товсті, м'ясисті коріння виконують функцію запасання поживних речовин. Зазвичай у рослин, як за походженням, так і за зовнішньою будовою, розрізняють два типи запасуючого коріння: кореневі бульби, або кореневі шишки, і м'ясисті корені. Останній тип запасу-

ючих коренів часто ще називають коренеплодами [8]. Коренеплід – агрономічний термін, який є лише образним виразом. Однак він широко поширений і у вітчизняній ботанічній літературі [1]. Коренеплоди формуються за рахунок головного кореня, але в утворенні їх можуть приймати участь також підсідим'ядові коліно і частково дещо видозмінений (укорочений) пагін. Кореневі бульби на відміну від м'ясистих коренів виникають не на головній осі рослини (корень–гіпокотиль–стебло), а на бічних коренях, тобто осях другого і більш високих порядків, а також на додатковому корінні [8]. Ймовірно, що у рослин мутантних ліній *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* корені видозмінилися в кореневі бульби. Такі метаморфози характерні для різних представників дводольних і однодольних рослин (жоржина, батат та інші). Дійсно в нашому випадку у рослин мутантних ліній *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* утворюються не звичайне для *A. thaliana* коріння у вигляді корневих шишок, яке формується в результаті метаморфозу бічного і додаткового коріння. Зовні ці корені уподібнюються їм. Однак на відміну від типових запасючих коренів вони не є органами, де відбувається накопичення запасних поживних речовин. Від звичайних бульб, наприклад жоржини, батату, ці корені відрізняються відсутністю в клітинах паренхіми відкладень надлишкових запасних продуктів. Тобто перетворення (видозміна) даного коріння в кореневій системі не пов'язано з виконанням функцій запасання поживних речовин. Тим не менш, у рослин мутантних ліній *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* бічне і додаткове коріння різко товщає і стає м'ясистим. Їх зростання в товщину є наслідком зміни форми клітин, викликаної мутаціями в генах *COB1*, *LIT1* і *SAB1* шляхом порушення розтягування клітинних оболонок в радіальному напрямку. У таких випадках у рослин під впливом мутацій *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* при потовщенні бічного і додаткового коріння утворюються кореневі бульби.

Висновки. Таким чином, дані наших досліджень будови корневих систем у рослин мутантних ліній *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* показали, що мутації *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* генів *COB1*, *LIT1* і *SAB1* обумовлюють в кореневій сис-

темі, як потовщення, так і укорочення довжини бічного і додаткового коріння. В результаті у рослин під впливом рецесивних алелів *cob-1*, *lit-1* і *sab1-1* формується не типове коріння у вигляді корневих шишок, що представляє собою потовщене бічне і додаткове коріння.

Список використаної літератури. 1. Андреева И.И., Родман Л.С. Ботаника. – М., 1999. 2. Большой практикум по физиологии растений: Учебн. пособие для студентов биол. спец. вузов / Б.А. Рубина, И.А. Чернавина, Н.Г. Потапов и др. – М., 1978. 3. Доспехов Б.А. Методика (с основами статистической обработки результатов исследований). – М., 1985. 4. Жуковский П.М. Ботаника. – М., 1982. 5. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М., 1990. 6. Мойсейченко В.Ф., Ещенко В.О. Основы научных исследований в агрономии. – К., 1994. 7. Тутаяков В.Х. Анатомия и морфология растений. – М., 1972. 8. Хржановский В.Г. Курс общей ботаники (цитология, гистология, органогения, размножение). – М., 1982. 9. Aeschbacher R.A., Hauser M.T., Feldmann K.A., Benfey P.N. The SABRE gene is required for normal cell expansion in Arabidopsis // *Genes Dev.* – 1995. – Vol. 9, № 3. – P. 330–340. 10. Benfey P.N., Linstead J., Roberts K. et al. Root development in Arabidopsis: four mutants with dramatically altered root morphogenesis // *Development.* – 1993. – Vol. 119, №5. – P. 57–70. 11. Bhandari S., Fujino T., Thammanagowda S. et al. Xylem-specific and tension stress-responsive coexpression of KORRIGAN endoglucanase and three secondary wall-associated cellulose synthase genes in aspen trees // *Planta.* – 2006. – Vol. 224, №4. – P. 828–837. 12. Brady S.M., Song S., Dhugga K.S. et al. Combining expression and comparative evolutionary analysis. The COBRA gene family // *Plant Physiol.* – 2007. – Vol. 143, №1. – P. 172–187. 13. Cosgrove D.J. How do plant cell walls extend? // *Plant Physiol.* – Vol. 102, №2. – P. 1–6. 14. Roudier F., Fernandez A.G., Fujita M. et al. COBRA, an Arabidopsis extracellular glycosyl-phosphatidyl inositol-anchored protein, specifically controls highly anisotropic expansion through its involvement in cellulose microfibril orientation // *Plant Cell.* – 2005. – Vol. 17, №6. – P. 1749–1763. 15. Roudier F., Schindelman G., De Salle R., Benfey P.N. The COBRA family of putative GPI-anchored proteins in Arabidopsis. A new fellowship in expansion // *Plant Physiol.* – 2002. – Vol. 130, №2. – P. 538–548. 16. Schindelman G., Morikami A., Jung J. et al. COBRA encodes a putative GPI-anchored protein, which is polarly localized and necessary for oriented cell expansion in Arabidopsis // *Genes Dev.* – 2001. – Vol. 15, №9. – P. 1115–1127. 17. Szyjanowicz P.M., Mc Kinnon I., Taylor N.G. et al. The irregular xylem 2 mutant is an allele of korrigan that affects the secondary cell wall of Arabidopsis thaliana // *Plant J.* – 2004. – Vol. 37, №5. – P. 730–740. 18. Tanaka K. Three distinct rice cellulose synthase catalytic sub-unit genes required for cellulose synthesis in the secondary wall // *Plant Physiol.* – 2003. – Vol. 133, №4. – P. 73–83. 19. Zuo J., Niu Q.W., Nishizawa N. et al. KORRIGAN, an Arabidopsis endo-1,4-beta-glucanase, localizes to the cell plate by polarized targeting and is essential for cytokinesis // *Plant Cell.* – 2000. – Vol. 12, №7. – P. 1137–1152.

Надійшла до редколегії 16.03.12

УДК 587.871.1:8.04.615.28

М. Борецька, канд. біол. наук, О. Радченко, канд. біол. наук, Л. Степура, канд. техн. наук, Ю. Юмина, канд. біол. наук

ВПЛИВ ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТУ НАТРІЮ НА МОРФОЛОГІЮ КЛІТИН *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA*

Культивування *Stenotrophomonas maltophilia* на МПА з додецилсульфатом натрію в концентрації 0,005% призводило до суттєвих змін у морфології клітин. Уже після першого пасажу клітини вкорочувалися з 2,05 до 1,2 мкм, погано поглинали барвник сафранін. Після 4-го пасажу вони деформувалися, цитоплазма мала ділянки з різною оптичною щільністю, порушувалося розходження при поділі, утворювалися ланцюжки. Після 10 пасажу довжина клітин частково відновлювалася, спостерігалось утворення великої кількості темних і прозорих округлих включень. Товщина клітин не змінювалася і становила 0,55–0,7 мкм.

Ключові слова: морфологія клітин, сафранін, поверхнево-активні речовини.

Культивирование *Stenotrophomonas maltophilia* на МПА с додецилсульфатом натрия в концентрации 0,005% приводило к существенным изменениям в морфологии клеток. Уже после первого пассажа клетки уменьшались с 2,05 до 1,2 мкм, плохо поглощали краситель сафранин. После 4-го пассажа они деформировались, цитоплазма с различной оптической плотностью, нарушались различия при разделении, образовывались цепочки. После 10 пассажа длина клеток частично восстанавливалась, наблюдалось образование большого количества темных и прозрачных округлых включений. Толщина клеток не менялась и составляла 0,55–0,7 мкм.

Ключевые слова: морфология клеток, сафранин, поверхностно-активные вещества

***Stenotrophomonas maltophilia* cultivation on meat peptone agar with sodium dodecyl sulfate at a concentration of 50 mg / l showed a significant changes in the cells morphology. Cells become shorter already after first passage from 2.05 to 1.2 microns, poorly absorbed dye safranin. They changed its form after 4th passage, cytoplasm had a lot of different optical density differences, raised at division, formed chains. Length of cells partially restored after 10 passage, formation of a large number of dark and transparent rounded inclusions observed. The thickness of the cells did not change and amounted 0,55–0,7 microns.**

Keywords: cell morphology, safranin, surface-active substances.

Вступ. Поверхнево-активні речовини (ПАР) – це велика група синтетичних хімічних сполук, які завдяки дифільній молекулярній структурі здатні концентруватися на міжфазних поверхнях, змінюючи їх властивості. ПАР широко використовуються в хімічній, нафтопереробній, целюлозно-паперовій, металургійній, приладо-

будівній, харчовій, парфумерній, текстильній, поліграфічній, медичній та інших промисловостях в якості стабілізаторів, гідрофобізаторів, модифікаторів поверхні, емульгаторів, диспергаторів, піноутворювачів, миючих засобів, антистатиків, інгібіторів корозії, тощо [5]. За характером дисоціації всі ПАР поділяють на аніонні,

© Борецька М., Радченко О., Степура Л., Юмина Ю., 2013

катионні, неіоногенні та амфолітні. Найпоширенішим серед аніонних ПАР є додецилсульфат натрію (ДСН, $C_{12}H_{25}SO_4Na$) – натрієва сіль лаурилсульфокислоти.

ПАР негативно впливають на організми. ДСН за низьких концентрацій розрихлює біологічні мембрани, за вищих зв'язується з гідрофобними ділянками на поверхні мембранних білків, витісняючи звідти ліпіди, а за високих концентрацій клітини лізуються, бо білкові молекули вивільнюються у вигляді комплексів з детергентом [8]. Відомо, що кількахвилинний контакт 0,05% ДСН з клітинами *Escherichia coli* викликає руйнування плазматичної мембрани, переміщення ядерного матеріалу до периферії клітини, стискання нуклеоїду [9]. Нагрівання клітин *Bacillus subtilis* у 5% ДСН змінювало структуру цитоплазми і призводило до появи ділянок з різною оптичною щільністю [7]. Раніше нами було показано, що за короткотривалого (10 пасажів) культивування на середовищі, яке містило ДСН в концентрації 50 мг/л, бактерії роду *Corynebacterium* змінювали морфологію клітин, забарвлення за Грамом, чутливість до антибіотиків, інтенсивність секреції лізину, антигенні властивості і склад поверхневих білків [1,6]. Дисоціація клітин *Corynebacterium glutamicum* 22Л на грампозитивні і грамнегативні після кількох пересівів на середовище ДСН зростала з 0,1% (рівень природної дисоціації) до 40%. *Staphylococcus aureus* та його варіант, що впродовж 4 пасажів культивували на МПА з ДСН змінювали здатність позитивно забарвлюватися за Грамом [4].

Корозія металів за аеробних і анаеробних умов пов'язана з життєдіяльністю мікробних угруповань, які складаються з бактерій циклу сірки та їхніх гетеротрофних супутників. Завдяки присутності гетеротрофів, що виділяють слиз, тіонові та сульфатредуквальні бактерії мають можливість формувати гетерогенну міцну корозійно небезпечну біоплівку. *Stenotrophomonas maltophilia* була виділена саме з такої біоплівки на поверхні кородованого металу [3]. До активних засобів боротьби з біоплівками відносять інгібітори корозії серед яких є і ПАР. Тому дослідження їх впливу на мікроорганізми є актуальним, а у подальшому може забезпе-

чити вибір правильної стратегії захисту металевих конструкцій від корозійно небезпечних бактерій.

Метою даної роботи було порівняти морфологію клітин *Stenotrophomonas maltophilia* до і після контакту з додецилсульфатом натрію.

Об'єкт та методи досліджень. Об'єктом дослідження була культура *Stenotrophomonas maltophilia* з колекції відділу загальної та ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України: вихідний штам і його варіанти. Варіанти отримували після 1, 4 та 10 пасажів на МПА, в яке додавали додецилсульфат натрію (ДСН) в концентрації 50 мг/л. Культивування проводили за 28°C. Морфологію клітин вивчали за допомогою світлової і електронної мікроскопії. Мазки, забарвлені за Грамом (модифікація Бьорка)[2] Здосліджували під світловим мікроскопом Zeiss Primo Star. Для електронної мікроскопії застосовували мікроскоп Jeol 1400 (Японія). Краплю суспензії наносили на мідні сіточки з формваром та мікроскопіювали без додаткового контрастування.

Результати та їх обговорення. Світлова мікроскопія клітин *S. maltophilia* показала, що уже після першого пересіву на МПА з ДСН (рис.1) клітини різко змінювали свою морфологію – однорідні продовгуваті палички ставали округлими, вкорочувалися і погано профарбовувалися сафраніном. Після 4-го пасажу клітини були коковидні, різної довжини, у них порушувалося розходження при діленні, про що свідчить поява ланцюжків. Після 10 пасажу на середовище з ДСН довжина клітин залишалася неоднорідною, але, на нашу думку, спостерігалася тенденція до відновлення морфології. Контролем була культура, яка культивувалася на МПА без ксенобіотика. Впродовж 10 пасажів морфологія клітин не змінювалася.

На рис.2 наведено фотографії електронної мікроскопії, які підтверджують попередні дослідження. Чітко спостерігалася вкорочення клітин після 1 пасажу з 2,05 до 1,2 мкм, після 4 пасажів довжина становила 1,3 мкм, а після 10 пасажів нерівномірно зростала (у деяких клітин до 1,56 мкм). Товщина клітин практично не змінювалася і коливалася в межах 0,55-0,7 мкм.

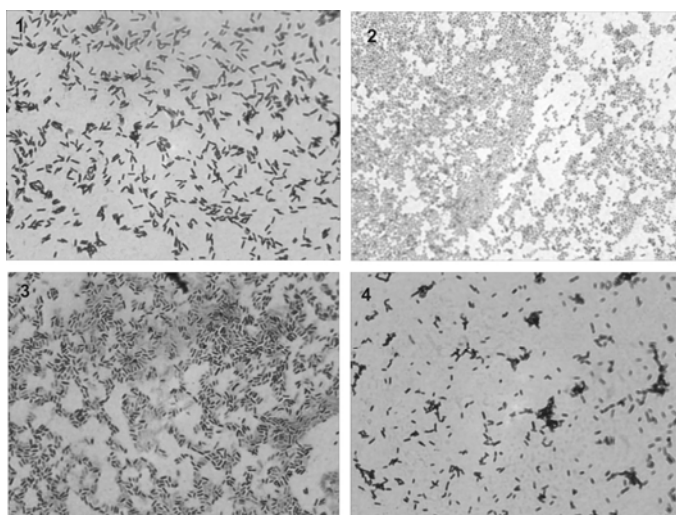


Рис. 1. Морфологія клітин *Stenotrophomonas maltophilia* у препараті, забарвленому за Грамом (світлова мікроскопія):

1 – вихідний штам – клітини однорідні; 2 – варіант, що культивувався 1 пасаж на МПА з ДСН (50 мг/л) – клітини коковидні, погано профарбовуються; 3 – варіант, що культивувався 4 пасажи на МПА з ДСН (50 мг/л) – клітини різної довжини, зустрічаються ланцюжки, можливо є капсули; 4 – варіант, що культивувався 10 пасажами на МПА з ДСН (50 мг/л) – клітини різної довжини, але їх морфологія відновлюється

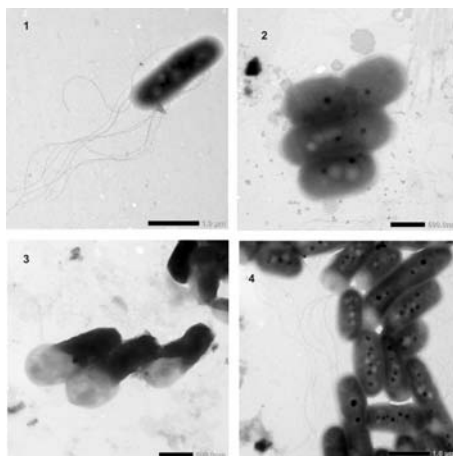


Рис. 2. Морфологія клітин *Stenotrophomonas maltophilia* в електронному мікроскопі:

1 – вихідний штам – клітини однорідні, циліндричної форми зі джгутиками; 2 – варіант, що культивувався 1 пасаж на МПА з ДСН (50 мг/л) – клітини вкорочені; 3 – варіант, що культивувався 4 пасажи на МПА з ДСН (50 мг/л) – клітини деформовані, вкорочені; 4 – варіант, що культивувався 10 пасажами на МПА з ДСН (50 мг/л) – клітини різної довжини, але їх морфологія відновлюється; чітко видно темні і прозорі включення

Після 4 пасажу клітини *S. maltophilia* виглядали деформованими, роздутими з одного кільця, що можливо пов'язано з ушкодженням клітинної стінки поверхнево-активною речовиною. Спостерігалася поява у цитоплазмі значних зон з різною оптичною щільністю. В клітинах *S. maltophilia* після 10 пересівів на МПА з ДСН було чітко видно збільшення кількості темних і прозорих округлих включень різного розміру, які розміщувалися вздовж клітин. Зміна морфології вказує на суттєвий негативний вплив ДСН на клітини *S. maltophilia* за культивування на середовищі з цим ксенобіотиком і на тенденцію до їх поступової адаптації.

Висновки. Таким чином, було показано, що культивування бактерій *Stenotrophomonas maltophilia* на МПА з незначним вмістом (50 мг/л) аніонної поверхнево-активної речовини додецилсульфатом натрію призводить до зміни морфології клітини, а саме: зменшення довжини, деформації, утворення ланцюжків і великої кількості включень з різною щільністю, погане поглинання барвника. Часткове відновлення морфології спостерігали після десятого пасажу, що може свідчити про поступову адаптацію культури до аніонної ПАР.

Список використаної літератури. 1. Михальський Л.О., Фуртат І. М., Радченко О.С., Степура Л.Г. Вплив синтетичних поверхнево-активних речовин на деякі біологічні властивості непатогенних видів роду *Corynebacterium* // Мікробіол. журн. – 2006. – Т.68, №3. – С.52-61. 2. Практикум із загальної мікробіології / Радченко О.С., Степура Л.Г., Домбровська І.В. та ін.; за ред. В.К.Позура. – К., 2011. 3. Протасова М.О., Собко В.М., Козлова І.П. Адгезія і колонізація поверхні скла *Thiobacillus thioararus* та *Stenotrophomonas maltophilia* та їх бінарною культурою // Мікробіол.журн. – 2005. – 67, №6. – С 57-63. 4. Радченко О.С., Степура Л.Г., Зелена П.П. Вплив додецилсульфату натрію на деякі біологічні властивості *Staphylococcus aureus* // ВІСНИК Київського національного університету імені Тараса Шевченка. – 2011. – БІОЛОГІЯ. 58. – С.37-39. 5. Ставская С. С., Удод В. М., Таранова Л. А., Кривец І. А. Микробиологическая очистка воды от поверхностно-активных веществ. – К., 1988. 6. Фуртат І.М., Ногіна Т.М., Михальський Л.О. та ін. Вплив поверхнево-активних речовин на деякі біологічні властивості *Corynebacterium glutamicum* // Національний університет "Києво-Могилянська Академія" Наукові записки. – 2002. – 20, 2. – С.435-438. 7. Mendelson N.H., Haag S.M., Cole R.M. Cellular organization of *Bacillus subtilis*: sodium dodecyl sulfate-induced cell partitioning into zebra structure // Journal of Bacteriology. – 1976. – V.126, N3. – P.1285-1296. 8. Solheim M., Aakra A., Vebo H., et al Transcriptional responses of *Enterococcus faecalis* V583 to bovine bile and sodium dodecyl sulfate // Appl.Environ.Microbiol. – 2007. – V.73, N18. – P.5767–5774. 9. Woldringh C.L., van Isteron W. Effect of treatment with sodium dodecyl sulfate on the ultrastructure of *Escherichia coli* // Journal of Bacteriology. – 1972. – V.111, N3. – P.801-813.

Надійшла до редколегії 05.11.12

УДК 577.352.38

К. Дворченко, канд. біол. наук, С. Вакал, асп.,
А. Драничина, канд. біол. наук, Л. Остапченко, проф.

ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ У ПІДШЛУНКОВІЙ ЗАЛОЗІ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ГІПОАЦИДНОСТІ ТА ПРИ ДІЇ МУЛЬТИПРОБІОТИКА СИМБІТЕР

Встановлено, що у підшлунковій залозі щурів при тривалій гіпоацидності активувались вільнорадикальні процеси: зростає вміст супероксидного аніон-радикалу і оксиду азоту та збільшувались ксантиноксидазна та загальна NO-синтазна активності. Мультипробіотик Симбітер суттєво знижував інтенсивність вільнорадикальних реакцій у підшлунковій залозі щурів за умов тривалої шлункової гіпохлоргідрії.

Ключові слова: вільнорадикальні процеси, гіпоацидність, Симбітер.

Установлено, что в поджелудочной железе крыс при длительной гипоацидности активировались свободнорадикальные процессы: возрастало содержание супероксидного анион-радикала и оксида азота и увеличивались ксантиноксидазная и общая NO-синтазная активность. Мультипробіотик Симбітер существенно снижал интенсивность свободнорадикальных реакций в поджелудочной железе крыс при длительной желудочной гипохлоргидрии.

Ключевые слова: свободнорадикальные процессы, гипоацидность, Симбітер.

The free radical processes were activated in rat pancreas upon long-term hypoacidic conditions. The contents of both superoxide anion-radical and nitric oxide were elevated and xanthine oxidase and NO-synthase activities were increased. The multiprobiotic Symbiter significantly decreased the intensity of free radical reactions in rat pancreas upon long-term gastric hypoacidity.

Keywords: free-radical processes, hypoacid, Symbiter.

Вступ. Однією з **універсальних** складових клітинних ушкоджень є інтенсифікація вільнорадикальних процесів,

яка може бути наслідком гіперпродукції вільних радикалів та нестачі системи антиоксидантного захисту. Ініціацію вільнорадикальних реакцій в клітині здійснюють ак-

© Дворченко К., Вакал С., Драничина А., Остапченко Л., 2013

тивні форми кисню та азоту. Активні форми кисню (АФК) та азоту (АФА) належать до молекул з чіткими хімічними та біологічними властивостями. До АФК відносяться всі окисні та збудливі стани молекули кисню, які виникають у фізіологічних умовах, включаючи супероксид, синглетний кисень, гідроксильний радикал, перекис водню, інші пероксиди та гіпогалогеніти. До АФА належать оксид азоту та його проміжні окисно-відновні продукти, які з'являються за фізіологічних умов, включаючи нітросил, закис азоту, нітрозоній, диоксид азоту і деякі нестійкі аддукти оксиду азоту з біомолекулами, такими як S-нітрозотіоли та дінітрозильні комплекси заліза. Активні форми кисню та азоту є невід'ємною частиною внутрішньоклітинної сигналізації, але при надмірному утворенні вони можуть викликати пошкодження.

В останні роки значно розширились уявлення про роль АФК та АФА у різних фізіологічних і патологічних процесах, в тому числі, у патогенезі захворювань шлунково-кишкового тракту (ШКТ) [5, 6]. Зокрема, окисний стрес є важливою патогенетичною ланкою у розвитку як гострого, так і хронічного панкреатиту [9, 11]. Існує ряд даних про взаємозв'язок виникнення гострих панкреатитів на фоні тривалого прийому препаратів, що блокують шлункову секрецію гідрохлоридної кислоти [14, 16]. Для корекції структурно-функціональних порушень у ШКТ, застосовують пробіотики, як засоби, що сприяють відновленню гомеостазу за рахунок нормалізації мікрофлори у організмі. Особливої уваги в цьому сенсі заслуговують мультипробіотики, яким притаманний широкий спектр біологічної активності. До таких препаратів належить мультипробіотик "Симбітер® ацидофільний" концентрований (Симбітер), який характеризується полікомпонентністю (18 штамів бактерій родів *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* і *Propionibacterium*), широким спектром біологічної активності та взаємовідносинами міжпопуляційними відносинами.

Тому метою нашої роботи було дослідити активність вільнорадикальних процесів у підшлунковій залозі щурів за умов тривалої гіпоацидності та при введенні мультипробіотика Симбітер.

Об'єкт та методи досліджень. Дослідження проводили на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою тіла 180-220г з дотриманням загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 року), інших міжнародних угод та національного законодавства у цій галузі. Всіх тварин, яких було використано в досліді, утримували в стандартних клітках. Воду та збалансований гранульований корм тварини отримували *ad libitum*. Усіх тварин розділяли на

три експериментальні групи. У першій групі (контроль) щурам протягом 28 днів вводили внутрішньочеревно 0,2 мл та перорально 0,5 мл води для ін'єкцій. У другій групі щурів моделювали гіпоацидний стан за допомогою внутрішньочеревного введення 14 мг/кг омепразолу (Sigma, USA), 1 раз на добу протягом 28 днів. Тваринам третьої групи протягом 28 днів одночасно вводили омепразол внутрішньочеревно в дозі 14 мг/кг та мультипробіотик Симбітер (виробництва ТОВ "О.Д. Пролісок") перорально в дозі 0,14 мл/кг, розчинений у 0,5 мл води для ін'єкцій.

Вміст супероксидного аніон-радикалу визначали спектрофотометрично з використанням в якості акцептора електронів ХТТ [15]. Активність ксантиноксидази визначали за утворенням сечової кислоти з ксантину [4]. Визначення загальної NO-синтазної активності проводили згідно з методом [13], який полягає у визначенні приросту продуктів аеробного окислення оксиду азоту. Вміст оксиду азоту визначали за допомогою діазореакції з реактивом Грісса та обраховували із суми вмісту нітритів та нітратів, відновлених до нітритів азоту металевим цинком [1]. Статистичний аналіз проводили з використанням *t*-критерію Стюдента; вірогідними вважали дані при $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення. При тривалому пригніченні шлункової секреції гідрохлоридної кислоти омепразолом у підшлунковій залозі вміст супероксидного аніон-радикалу зростав в 1,5 рази відносно контролю. За умов введення мультипробіотика Симбітер щурам з гіпоацидним станом цей показник знижувався в 1,2 рази порівняно з групою тварин, яким вводили лише омепразол (табл. 1). Супероксидні аніони генеруються за умов одноелектронного відновлення молекул кисню у мітохондріальних та мікосомальних електронтранспортних ланцюгах клітин підшлункової залози. Крім того, додатковим джерелом супероксиду може бути активність ксантиноксидази.

В наших дослідженнях показано, що ксантиноксидазна активність у підшлунковій залозі при тривалій шлунковій гіпохлоргідрії зростала в 1,3 рази відносно контролю (табл. 1). Зростання активності досліджуваного ензиму у підшлунковій залозі пов'язано з окисленням дисульфідних зв'язків ксантиндегідрогенази та перетворенням її на ксантиноксидазу, що може відбуватися за рахунок збільшення вмісту оксиду азоту [12]. При введенні мультипробіотика Симбітер щурам з гіпоацидним станом ксантиноксидазна активність знижувалась в 1,4 рази порівняно з тваринами, що отримували омепразол (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст супероксидного аніон-радикалу та ксантиноксидазна активність у підшлунковій залозі щурів за умов тривалої гіпоацидності ($M \pm m$, $n=10$)

Група тварин	Параметр	Вміст супероксидного аніон-радикалу, $\mu\text{моль ХТТ-формази на } \mu\text{г протеїну}^{-1}$	Ксантиноксидазна активність, $\text{нмоль х хв}^{-1} \text{ х } \mu\text{г протеїну}^{-1}$
Контроль		$20,37 \pm 1,85$	$7,48 \pm 0,69$
Омепразол		$31,24 \pm 2,92^*$	$9,34 \pm 0,85^*$
Омепразол + Симбітер		$25,93 \pm 2,47^{**}$	$6,71 \pm 0,63^{**}$

Примітки: * – $p < 0,05$ порівняно з контролем; ** – $p < 0,05$ порівняно з групою тварин, яким вводили омепразол

Утворений супероксидний аніон-радикал у підшлунковій залозі за умов тривалої гіпоацидності в подальшому може приймати участь в реакціях, які спричинюють ураження панкреоцитів: перекисне окиснення ненасичених жирних кислот, окиснення SH-груп білків, пошкодження ДНК та ін. Токсичність супероксидних аніонів може зростати за рахунок вторинних реакцій, які призводять до утворення гідроксильних радикалів та синглетного кисню. Також, супероксидний аніон-

радикал здатний активувати синтазу оксиду азоту, яка утворює NO-радикал.

Встановлено, що при тривалій шлунковій гіпохлоргідрії у підшлунковій залозі загальна NO-синтазна активність зростала в 4 рази відносно контролю. За цих же умов експерименту у тканині підшлункової залози вміст оксиду азоту збільшувався в 2,3 рази порівняно з контрольною групою (табл. 2).

Таблиця 2. Загальна NO-синтазна активність та вміст NO₂⁻ у підшлунковій залозі щурів за умов тривалої гіпоацидності, (M ± m, n=10)

Група тварин	Параметр	Загальна NO-синтазна активність, нМоль х хв ⁻¹ х мг протеїну ⁻¹	Оксид азоту, нМоль х мг протеїну ⁻¹
Контроль		2,41 ± 0,23	1,31 ± 0,11
Омепразол		9,73 ± 0,95*	2,99 ± 0,27*
Омепразол + Симбітер		4,31 ± 0,42#	1,97 ± 0,18 [#]

Примітки: * – $p < 0,05$ порівняно з контролем; # – $p < 0,05$ порівняно з групою тварин, яким вводили омепразол

Збільшення вмісту оксиду азоту в клітині може викликати пошкодження білків та ДНК, що може призвести до структурного та функціонального пошкодження органу. У підшлунковій залозі деструктивній дії оксиду азоту найбільш піддаються бета-клітини острівців Лангенгарса, дисфункція та деструкція яких вільними радикалами, і головним чином – оксидом азоту, є ключовою ланкою розвитку інсулінозалежного діабету [8].

При сумісному введенні омепразолу та мультипробіотика Симбітер у підшлунковій залозі знижувались NO-синтазна активність – в 2,3 рази, вміст оксиду азоту – в 1,5 рази по відношенню до групи щурів з гіпоацидним станом (табл. 2). Встановлене накопичення вільних радикалів у клітинах підшлункової залози за умов тривалої шлункової гіпохлоридії може бути пов'язане з розвитком гіпоксії. Потужним джерелом супероксидного аніон-радикалу є ланцюги переносу електронів – мітохондріальний та мікосомальний, де він утворюється за умов витоку електронів з відновлених елементів ланцюга на молекулярний кисень. Також в умовах гіпоксії посилюється трансформація ксантиндегідрогенази у ксантиноксидазу [10], яка ініціює утворення супероксидного аніон-радикалу, що спостерігається в тканині підшлункової залози за умов гіпоацидного стану. Супероксидний аніон-радикал відіграє вагомий роль у розвитку окисного стресу, оскільки він може перетворюватись в більш агресивні радикали, такі як гідроксильний та інші, що може спричинити пошкодження багатьох клітинних компонентів. Продуктом реакції супероксидного аніон-радикалу та оксиду азоту може бути утворення пероксинітриду (ONOOH), який є потужним окислювачем. Завдяки своїм властивостям пероксинітрид здатний викликати пошкодження широкого спектру молекул: окислювати NH- і SH-групи протеїнів, індукувати процеси перекисного окиснення ліпідів в мембранах та викликати одноланцюгові розриви ДНК. Таким чином, підвищення інтенсивності радикальних реакцій за умов тривалої гіпоацидності є первинним процесом, який постачає активні продукти, що здатні викликати пошкодження клітинних структур та дезорганізацію метаболізму у підшлунковій залозі. Зниження мультипробіотиком Симбітер інтенсивності вільнорадикальних реакцій у підшлунковій залозі обумовлені властивостями мікроорганізмів, що входять до його складу. Так, бактерії роду *Lactobacillus*, *Lactococcus* та *Bifidobacterium* синтезують супероксиддисмутазу, каталазу, відновлений глутатіон, які здатні знешкоджувати вільні радикали [2, 3, 7].

Висновки. Проведені дослідження свідчать про інтенсифікацію вільнорадикальних процесів у тканині підшлункової залози за умов тривалої гіпоацидного

стану, про що вказує збільшення вмісту супероксидного аніон-радикалу, оксиду азоту, ксантиноксидазної та загальної NO-синтазної активності. Мультипробіотик Симбітер суттєво знижує інтенсивність вільнорадикальних реакцій у панкреоцитах щурів при тривалій шлунковій гіпохлоридії, що дає підстави розглядати цей препарат як ефективний засіб корекції окисних пошкоджень тканини підшлункової залози при тривалих гіпоацидних станах.

Список використаної літератури. 1. Кіселик І.О., Луцик М.Д., Шевченко Л.Ю. Особливості визначення нітратів та нітритів в периферичній крові у хворих на вірусні гепатити та при синдромі жовтяниці іншої етіології // Лабор. діагностика – 2001. – №3. – С. 43-45. 2. Bruno-Bárcena J.M., Andrus J.M., Libby S.L., Klaenhammer T.R., Hassan H.M. Expression of a heterologous manganese superoxide dismutase gene in intestinal lactobacilli provides protection against hydrogen peroxide toxicity // Appl. Environ. Microbiol. – 2004. – Vol. 70(8). – P. 4702-4710. 3. de Moreno de LeBlanc A., LeBlanc J.G., Perdigón G., et al. Oral administration of a catalase-producing *Lactococcus lactis* can prevent a chemically induced colon cancer in mice // J. Med. Microbiol. – 2008. – Vol. 57(Pt 1). – P. 100-105. 4. Hashimoto S. A new spectrophotometric assay method of xanthine oxidase in crude tissue homogenate // Anal Biochem. – 1974. – Vol. 62(2). – P. 426-435. 5. Kim Y.J., Kim E.H. and Hahn K.B. Oxidative stress in inflammation-based gastrointestinal tract diseases: challenges and opportunities // J. Gastroenterol. Hepatol. – 2012. – Vol. 27(6). – P. 1004-1010. 6. Lundberg J.O. and Weitzberg E. Biology of nitrogen oxides in the gastrointestinal tract // Gut. – 2012. – Vol. 10. – P. 1-14. 7. Lutgendorff F., Trulsson L.M., Minnen L.P. Probiotics enhance pancreatic glutathione biosynthesis and reduce oxidative stress in experimental acute pancreatitis // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2008. – Vol. 295. – P. G1111-G1121. 8. Mandrup-Poulsen T., Corbett J.A., McDaniel M.L., Nerup J. What are the types and cellular sources of free radicals in the pathogenesis of type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus? // Diabetologia. – 1993. – Vol. 36(5). – P. 470-471. 9. Park B.K., Chung J.B., Lee J.H., et al. Role of oxygen free radicals in patients with acute pancreatitis // World J. Gastroenterol. – 2003. – Vol. 9(10). – P. 2266-2269. 10. Poss W.B., Huecksteadt T.P., Panus P.C., Freeman B.A., and Hoidal J.R. Regulation of xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activity by hypoxia // Am. J. Physiol. Lung. Cell Mol Physiol. – 1996. – Vol. 270. – P. L941 – L946. 11. Que R.S., Cao L.P., Ding G.P., et al. Correlation of nitric oxide and other free radicals with the severity of acute pancreatitis and complicated systemic inflammatory response syndrome // Pancreas. – 2010. – Vol. 39(4). – P. 536-540. 12. Sakuma S., Fujimoto Y., Sakamoto Y., Uchiyama T., Yoshioka K., Nishida H., Fujita T. Peroxynitrite induces the conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in rabbit liver // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1997. – Vol. 230(2). – P. 476-479. 13. Salter M. Widespread tissue distribution, species and changes in activity of Ca²⁺-depend and Ca²⁺-independent nitric oxide synthases/ M. Salter, R.G. Knowles, S. Moncada // FEBS Lett. – 1991. – Vol. 291, №1. – P. 145-149. 14. Sundstrom A., Blomgren K., Alfredsson L., and Wiholm B.E. Acid-suppressing drugs and gastroesophageal reflux disease as risk factors for acute pancreatitis-results from a Swedish Case-Control Study // Pharmacoevidemol. Drug Saf. – 2006. – Vol. 15(3). – P. 141-149. 15. Sutherland M.W., Learmonth B.A. The tetrazolium dyes MTS and XTT provide new quantitative assays for superoxide and superoxide dismutase // Free Radic. Res. – 1997. – Vol. 27(3). – P. 283-289. 16. Youssef S.S., Iskandar S.B., Scruggs J., Roy T.M. Acute pancreatitis associated with omeprazole // Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. – 2005. – Vol. 43(12). – P. 558-561.

Надійшла до редколегії 05.10.12

УДК 632.38:633.11

Л. Неплій, наук. спів., О. Бабаянц, д-р біол. наук,
О. Молодченкова, канд. біол. наук, Н. Ляшук, інж. 1 кат.**ВПЛИВ ВЖКЯ НА КІЛЬКІСНИЙ ВМІСТ ХЛОРОФІЛІВ, КАРОТИНОЇДІВ
ТА ЗАГАЛЬНИХ ЦУКРІВ У ЛИСТКАХ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ В ПІВДЕННОМУ СТЕПУ УКРАЇНИ**

Вивчено вплив вірусу жовтої карликовості ячменю на вміст каротиноїдів, хлорофілу а і b, загальних цукрів у листках озимої м'якої пшениці Селекційно-генетичного інституту – національного центру насіннєзнавства та сорто-вивчення.

Ключові слова: ВЖКЯ, хлорофіли, каротиноїди, жовта карликовість ячменю.

Изучено влияние вируса желтой карликовости ячменя на содержание каротиноидов, хлорофилла а и b, общих сахаров в листьях озимой мягкой пшеницы Селекционно-генетического института – Национального центра семеноводства и сортоизучения.

Ключевые слова: ВЭЖХ, хлорофиллы, каротиноиды, желтая карликовость ячменя.

Barley yellow dwarf virus impact on the content of carotenoids, chlorophyll a and b, total sugars in leaves of winter wheat from Plant Breeding and Genetics Institution – National Center of Seed and Cultivar Investigation is studied.

Keywords: HPLC, chlorophyll, carotenoids, yellow dwarf virus.

Вступ. Вірус жовтої карликовості ячменю (ВЖКЯ) – збудник найбільш поширеного і небезпечного захворювання злакових культур, яке відмічене в усіх зерносіючих країнах світу, в тому числі, в Україні, в більшості з них періодично спостерігаються епіфітотії, які можуть призводити до 70% втрати врожаю [16]. Зокрема, на півдні України в біоценозі пшеничного та ячмінного полів домінуюче положення займає саме цей патоген [3,11].

Відомо, що віруси при ураженні рослин суттєво впливають на біохімічні показники. Вплив вірусної інфекції на метаболізм вуглеводів та вміст фотосинтетичних пігментів у пшениці озимій висвітлено у багатьох наукових джерелах, однак, майже всі вони відносяться до 70-90 рр. 20 ст. та не містять нових даних. Нині дослідження демонструють, що при ураженні різних видів рослин вірусами спостерігається тенденція до зниження вмісту хлорофілів а і b, каротиноїдів та підвищення суми цукрів [8,12,15,18]. Проте, сучасні роботи по дослідженню саме ВЖКЯ на фізіолого-біохімічні показники рослин пшениці в Україні поодинокі [7], а у південному регіоні нашої країни – проводяться у Селекційно-генетичному інституті (СГІ).

У статті наведені результати вивчення впливу ВЖКЯ на вміст каротиноїдів, хлорофілу а та b, загальних цукрів у листках озимої пшениці сортів селекції СГІ в умовах південного Степу України.

Матеріали та методи. В 2008/09 році на фоні природної інфекції ВЖКЯ в сівозміні пар – озима пшениця, вивчали сорти озимої м'якої пшениці: Альбатрос одеський, Вікторія одеська, Антонівка, Косовиця, Вдала, Писанка, Годувальниця, Землячка, Литанівка, Господина, Скарбниця, Служниця, Ніконія, Супутниця, Пошана, Кірія, Селянка, Куяльник,

Польовик, Отаман, Бунчук, Турунчук, Подяка, Зміна в ранньому строці сіву 17.09.07.

Норма висіву насіння складала 4,5 млн. шт./га, у трикратній повторності на ділянках площею 3м². У роботі рослини були розподілені на 2 групи: дослід та контроль. Дослід – рослини, які вирощувалися на фоні природної інфекції ВЖКЯ. Контролем були рослини озимої пшениці, не уражені ВЖКЯ. Для цього знищували переносників ВЖКЯ шляхом обробки рослин інсектицидними протруйниками Престиж (1,0 л/т) та через 21 день після сходів – Данадимом Стабільним (1,5 л/га). Знищували збудників грибних хвороб, у тому числі корневих гнилей, шляхом протруювання насіння двох груп фунгіцидним протруйником Ламардор (0,15-0,2 л/т).

Із появою сходів на всіх ділянках дослідів систематично проводили одночасні спостереження за розвитком рослин, появою шкідників та хвороб. Весною, для захисту від бур'янів, у фазу куштиння посіви обробляли гербіцидом Гроділ Максі (0,09 л/га). У фазу трубкування (фаза 39 за J. Zadoks) проти збудників борошнистої роси (*Blumeria graminis*), бурї листової (*Puccinia recondita*), стеблової (*Puccinia graminis*) і жовтої іржі (*Puccinia striiformis*), септоріозу (*Septoria tritici*) всі посіви обробляли фунгіцидним препаратом Фалькон (0,6 л/га). У фазу молочно-воскової стиглості (фаза 83 за J. Zadoks) проводили обробку проти клопа шкідливої черепашки (*Eurygaster integriceps* Put.) та інших шкідників колосу препаратом Конект (0,5 л/га).

Обліки ступеня ураження рослин ВЖКЯ проводили у фази початку трубкування, колосіння, формування зернівки та молочно-воскової стиглості. Його визначали візуально за 9-ти бальною шкалою (рис.1).

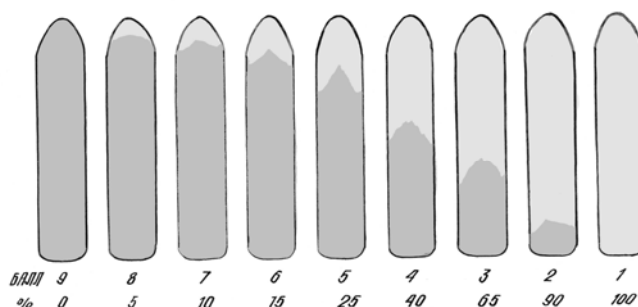


Рис. 1. Шкала для оцінки інтенсивності ураження ВЖКЯ

Примітка: симптоми ВЖКЯ у вигляді пожовтіння від верхівки листа

Найбільш точно інтенсивність ураження посіву оцінюється, якщо її визначають як середнє із ураженості кожного обліку рослин. Результати одного обліку, проведеного навіть в період максимального розвитку хвороби, не достатньо повно характеризує стійкість сорту, тому що не може відобразити тривалість та інтенсивність шкодочинності хвороби. Більш вірогідним показником є площа під кривою розвитку хвороби. Її визначали (в см²) за формулою:

$$F = \sum_{y=2}^m \frac{d_j(Y_j + Y_{j-1})}{2},$$

де F – площа під кривою розвитку хвороби; d_j – різниця в днях між двома послідовними обліками; Y_j – бал ураження при першому і кожному наступному обліку; Y_{j-1} – бал ураження при другому і кожному наступному обліку; m – кількість обліків [1].

Ідентифікацію ВЖКЯ у рослинних зразках проводили методом твердофазного імуноферментного аналізу (ІФА) в сандвіч-варіанті, застосовуючи реагенти Loewe (Німеччина). Результати реєстрували на рідері Termo Labsystems Opsis^{MR} (США) при довжинах хвиль 405 / 630 нм із програмним забезпеченням Dynex Revelation Quicklink.

З огляду на те, що кількість пігментів в листках у ході онтогенезу рослини та на різних стадіях її розвитку може суттєво варіювати, для подальших досліджень відбирали тільки підфлагові листки озимої пшениці, однакового віку, у фазу колосіння. Визначення кількісного вмісту хлорофілів *a* і *b* та каротиноїдів у листках пшениці проводили згідно методики Єрмакова, загальних цукрів – антроном методом [5].

Для визначення структури врожаю з кожної ділянки брали вибірково по 150 рослин, що попередньо були позначені прапорцями, на яких проводили обліки ураження. Головна увага приділялась вивченню маси зерна з рослини як основного показника урожайності.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за загальноприйнятими методами варіаційної статистики за П.Ф. Рокицьким [13].

Результати досліджень та їх обговорення. У 2008/09 році на рослинах озимої пшениці дослідної групи спостерігали симптоми пожовтіння листків, які є характерними для ВЖКЯ-інфекції. Результати ІФА підтвердили наявність антигенів BYDV-PAV.

У посіві 2008/09 року максимальна площа розвитку хвороби під кривою ВЖКЯ спостерігалась на сорті Литанівка і становила 1672 см², мінімальна – на сорті Господиня (1260 см²). Усі інші сорти зайняли проміжне положення за цим показником. Це можна пояснити різною реакцією сортів на вірусну інфекцію та різними погодними умовами, що склалися протягом цього вегетаційного сезону. Отримані нами дані співпадають з літературними. Так, в 1985 році Ніколенко М.П., Омельченко Л.І. відмічали, що сорти озимої м'якої пшениці, які поширені у південному Степу України високосприйнятливі до ВЖКЯ, але відрізняються за ступенем реакції на ураження [10].

Вивчення асиміляційних структур рослин, і, перш за все, пігментів – хлорофілів та каротиноїдів (головних фоторецепторів рослинних клітин) – має важливе значення для аналізу взаємодії рослин з умовами середовища та дослідження адаптації їх до різних чинників. Пігментний склад фотосинтетичного апарату формується залежно від генотипу, екологічних умов і стадії розвитку рослини. Вміст хлорофілів у листку є однією із найвиразніших характеристик адаптації фотосинтетичного апарату рослин до умов природного середовища, в тому числі і ураженні вірусом. Відомо, що найбільше значення для рослин мають каротиноїди, котрі являються допоміжними пігментами, так як сонячну енергію, спочатку поглинають самі, потім переносять на хлорофіл *a* та *b*, тому ми досліджували вплив вірусу жовтої карликовості ячменю на кількісний вміст каротиноїдів, хлорофілів *a* та *b* у рослинах, уражених ВЖКЯ. Так, у рослинах озимої м'якої пшениці усіх досліджуваних сортів, вирощених на фоні природної інфекції ВЖКЯ, відмічено зниження концентрації каротиноїдів порівняно з контрольним варіантом (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст каротиноїдів у листках рослин озимої пшениці, мг/ 100 г сирової речовини

№ п/п	Сорт	Інфекційний фон	Контроль
1	Альбатрос одеський	49,8±0,12	113,7±0,33
2	Вікторія одеська	48,3±0,27	103,5±0,26
3	Антонівка	44,5±0,55	110,6±0,24
4	Косовиця	50,1±0,22	101,7±0,27
5	Вдала	29,1±0,50	95,8±0,12
6	Писанка	35,1±0,28	98,7±0,79
7	Годувальниця	41,5±0,28	92,7±0,15
8	Землячка	25,2±0,29	101,6±0,23
9	Литанівка	32,1±0,07	77,1±0,15
10	Господиня	61,5±0,07	100,8±0,25
11	Скарбниця	46,5±0,18	81,6±0,31
12	Ніконія	36,6±0,09	87,7±0,09
13	Супутниця	34,1±0,20	101,5±0,10
14	Пошана	45,4±0,12	79,5±0,47
15	Кірія	42,0±0,09	89,4±0,36
16	Селянка	34,5±0,18	87,8±0,27
17	Куяльник	37,7±0,09	92,4±0,89
18	Польовик	47,2±0,45	85,9±1,01
19	Отаман	38,9±0,09	88,8±0,42
20	Бунчук	35,5±0,13	110,8±0,30
21	Турунчук	52,8±0,34	92,0±0,07
22	Подяка	21,8±0,25	93,1±0,30
23	Зміна	17,9±0,21	87,5±0,27

Примітка. В таблиці наведено середнє значення та стандартна похибка

Так, найменший вміст каротиноїдів відмічено у вірусифікованих рослинах сорту Зміна, який становив 17,9 мг/100 г сирової речовини, що порівняно з контролем менше на 79,5%. Найменшу різницю за цим показником виявлено для сорту Господиня (39,0%), що можна пояснити найменшою площею розвитку хвороби під кривою ВЖКЯ. У рослинах сортів Подяка, Землячка, Вдала концентрація каротиноїдів складала від 21,8 до 30 мг/100 г сирової речовини (на 76,6-69,6% нижче ніж у неінфікованих зразках). Суттєво відбувалось зменшення маси зерна з цих сортів – від 45,5% до 18,6% відповідно.

Концентрація каротиноїдів у вірусифікованих рослинах сортів Литанівка, Супутниця, Селянка, Писанка, Бунчук, Ніконія, Куяльник, Отаман, Годувальниця, Кірія, Антонівка, Пошана, Скарбниця, Польовик, Вікторія одеська та Альбатрос одеський становила від 32,1 до 49,8 мг/100 г сирової речовини, що на 42,0-66,4% нижче ніж у контролі (табл.1). При цьому для цих сортів відмічено і зниження маси зерна (від 9,1% до 56%).

У рослинах сортів Косовиця та Турунчук вміст каротиноїдів становив 50,1 та 52,8 мг/100 г сирової речовини відповідно, що на 50,7–42,6% менше порівняно з контролем. Маса зерна з однієї рослини була меншою відповідно на 21,4% та 60,4%.

Варто відмітити, що на сортах Альбатрос одеський, Селянка, Турунчук, Польовик, Вдала, Бунчук, Косовиця, Супутниця, Ніконія, Землячка, Куяльник, Скарбниця

спостерігалась кореляція між площею розвитку хвороби під кривою ВЖКЯ та вмістом каротиноїдів. Вміст цих пігментів у рослинах на інфекційному фоні ВЖКЯ в порівнянні з контролем був меншим від 1,5 до 4,3 разів, що свідчить про негативний та суттєвий вплив патогену на всі досліджувані сорти.

Нами встановлено, що втрати зерна на сортах Зміна, Вдала, Литанівка, Куяльник, Отаман, Пошана, Скарбниця, Косовиця за найбільш суттєвого зниження концентрації каротиноїдів були мінімальними (від 9,1% до 23,6%). Це можна пояснити повільнішим розвитком хвороби на листовій поверхні рослин. У вірусифікованих рослинах пшениці інших сортів, у яких також вміст цих пігментів був сильно знижений (від 76,6% до 42,6%), маса зерна була зменшена істотніше – від 45,5% до 60,4%. Це можна пояснити реакцією даних сортів на вірусну інфекцію та більш інтенсивнішим відмиранням клітин листової поверхні рослин озимої пшениці.

Дослідження впливу вірусної інфекції на вміст хлорофілів показало, що, як у випадку з каротиноїдами, найбільш суттєво вміст хлорофілу *a* зменшився у вірусифікованих рослинах сорту Зміна (на 78,6% порівняно з контролем), а найменша різниця відмічена для рослин сорту Господиня – на 44,1% (табл.2). При цьому зниження маси зерна з однієї рослини становило відповідно від 23,6% до 9,5%.

Таблиця 2. Вміст хлорофілу *a* у листках рослин озимої пшениці, мг/ 100 г сирової речовини

№ п/п	Сорт	Інфекційний фон	Контроль
1	Альбатрос одеський	181,3±0,52	484,0±0,69
2	Вікторія одеська	195,8±1,02	451,1±0,50
3	Антонівка	170,2±0,72	518,5±0,69
4	Косовиця	192,1±0,20	426,2±0,66
5	Вдала	113,9±0,22	418,0±0,90
6	Писанка	138,0±1,02	419,0±1,32
7	Годувальниця	166,2±0,59	373,7±0,52
8	Землячка	89,5±0,33	396,7±0,29
9	Литанівка	121,2±0,47	335,5±1,30
10	Господиня	232,6±0,26	415,8±2,10
11	Скарбниця	170,5±0,17	334,3±0,73
12	Ніконія	134,5±0,64	388,1±0,32
13	Супутниця	137,1±0,68	397,0±0,82
14	Пошана	171,6±0,17	322,7±0,07
15	Кірія	175,5±0,27	361,0±0,59
16	Селянка	146,1±0,32	334,7±0,97
17	Куяльник	159,3±0,07	400,4±1,61
18	Польовик	207,9±0,52	373,7±0,47
19	Отаман	161,7±0,07	427,3±1,27
20	Бунчук	179,1±0,53	468,7±1,66
21	Турунчук	204,0±0,37	388,7±0,39
22	Подяка	98,1±0,90	400,1±1,21
23	Зміна	72,2±0,35	337,2±0,67

Примітка. В таблиці наведено середнє значення та стандартна похибка

Концентрацію хлорофілу *a* від 89,5 до 98,1 мг/100 г сирової речовини визначено у рослинах сортів Землячка і Подяка, від 113,0 до 146,1 мг/100 г сирової речовини – сортів Вдала, Литанівка, Ніконія, Супутниця, Писанка, від 159,3 до 232,6 мг/100 г сирової речовини – Куяльник, Отаман, Годувальниця, Антонівка, Скарбниця, Пошана, Кірія, Бунчук, Альбатрос одеський, Косовиця, Вікторія одеська, Турунчук, Польовик, Господиня.

Кількісний вміст хлорофілу *a* у ВЖКЯ-інфікованих рослинах в порівнянні з контрольними був меншим від 1,8 до 4,7 разів.

При визначенні вмісту хлорофілу *b* встановлено, що найменшим він був у уражених ВЖКЯ рослинах сорту Зміна і становив 11,9 мг/100 г сирової речовини, а максимальним – сорту Господиня (82,8 мг/100 г сирової речовини) (табл. 3).

Таблиця 3. Вміст хлорофілу *b* у листках рослин озимої пшениці, мг/ 100 г сирової речовини

№ п/п	Сорт	Інфекційний фон	Контроль
1	Альбатрос одеський	70,2±1,35	183,8±1,45
2	Вікторія одеська	73,8±1,50	167,2±0,61
3	Антонівка	63,1±0,55	192,5±0,61
4	Косовиця	71,5±0,36	153,3±0,66
5	Вдала	41,2±0,35	157,1±0,09
6	Писанка	52,4±0,45	158,9±1,56
7	Годувальниця	61,5±0,28	135,5±1,00
8	Землячка	20,2±0,95	148,5±1,29
9	Литанівка	46,3±0,25	129,5±1,19
10	Господиня	82,8±0,53	168,7±1,45
11	Скарбниця	62,4±0,41	122,3±1,20
12	Ніконія	51,0±1,07	150,5±0,61
13	Супутниця	52,8±1,31	143,4±1,01
14	Пошана	61,6±0,26	115,3±1,80
15	Кірія	65,9±0,44	135,7±1,11
16	Селянка	54,4±0,95	121,3±0,45
17	Куяльник	52,9±0,33	152,7±0,86
18	Польовик	80,0±1,34	137,6±0,95
19	Отаман	63,3±0,35	157,4±1,70
20	Бунчук	75,1±0,92	174,8±2,32
21	Турунчук	82,4±0,94	151,5±0,19
22	Подяка	40,8±0,20	156,2±1,13
23	Зміна	11,9±0,80	123,6±0,87

Примітка. В таблиці наведено середнє значення та стандартна похибка

Усі інші сорти зайняли проміжне положення за цим показником. Концентрація хлорофілу *b* у контрольних рослинах була вищою у 1,7-10,4 рази порівняно з вірусінфікованими.

Отже, кількісний вміст каротиноїдів, хлорофілів *a* та *b* в листках рослин озимої пшениці за дії ВЖКЯ-інфекції зменшується. Отримані нами результати співпадають з даними наукової літератури. Так, у 1974 році Дутко В.П. відмічав зниження кількості каротиноїдів та зниження хлорофілів *a* та *b* в рослинах, уражених ВЖКЯ на півдні України [4]; Ладигіна та ін. відмічали, що вірус тютюнової мозаїки призводить до послаблення зв'язку хлорофілу з білком у листках *Nicotiana tabacum*, при цьому захворювання рослин супроводжується значним послабленням їх фотосинтетичної активності [6]. У 2009 році Міщенко Л.Т. відмічала, що вміст суми хлорофілів у листках озимої пшениці сортів Альбатрос одеський та Коломак знижувався під впливом вірусу смугастої мозаїки пшениці до 56%, а каротиноїдів, навпаки, зростав у середньому на 58% залежно від сорту [7]. Зниження концентрації хлорофілів у листках квасолі при вірусній інфекції спостерігала Таран Н.Ю. зі співавт. [14].

Зменшення кількості пігментів за дії вірусної інфекції пов'язують з їх руйнуванням. Бойко А.Л. зі співавторами відмічали, що знайдені фізіолого-біохімічні закономірності в реакціях рослин на вірусну інфекцію пов'язані з деградацією ультраструктурної організації хлоропластів та інших органел клітини. На першому етапі вірусного захворювання (вірусу смугастої мозаїки пшениці) хлоропласти клітин мезофілу ряду сортів озимої пшениці не зазнають явних паталогічних змін. З появою на листках хлорозних смужок у хлоропластах різко збільшується чисельність і розміри пластоглобул, зменшується середня кількість тилакоїдів у гранах і кількість самих гран, що призводить до різкого зниження кількості фотосинтетичних мембран, тобто спостерігається типова картина старіння хлоропластів. Із подальшим розвитком хвороби, коли на листках з'являються некротичні зони, настає повна деградація хлоропластів і їхнє внутрішнє середовище заповнюється великими пластоглобулами, залишками фотосинтетичних мембран, а оболонка в багатьох місцях руйнується [2].

За дії вірусної інфекції кількість загальних цукрів у листках рослин озимої пшениці, вирощених на інфекційному фоні ВЖКЯ, була вищою порівняно з контролем (табл. 4).

Таблиця 4. Вміст загальних цукрів у листках рослин озимої пшениці, %/ 100 г сирової речовини

№ п/п	Сорт	Інфекційний фон	Контроль	% збільшення вмісту загальних цукрів
1	Альбатрос одеський	38,9±0,45	14,0±0,16	177,9
2	Вікторія одеська	37,8±0,57	17,5±0,43	116,0
3	Антонівка	39,7±0,37	17,5±0,83	126,9
4	Косовиця	38,6±0,52	17,8±0,31	116,9
5	Вдала	40,3±0,52	15,9±0,12	153,5
6	Писанка	41,4±0,26	14,4±0,51	187,5
7	Годувальниця	42,2±0,57	19,0±0,69	122,1
8	Землячка	39,2±0,48	17,6±0,15	122,7
9	Литанівка	40,9±0,42	19,0±0,31	115,3
10	Господиня	34,6±0,62	21,6±0,49	60,2
11	Скарбниця	41,2±0,62	21,0±0,11	96,2
12	Ніконія	44,2±0,44	16,4±0,14	169,5
13	Супутниця	44,4±0,21	20,9±0,50	112,4
14	Пошана	40,3±0,41	22,2±0,19	81,5
15	Кірія	39,4±0,42	19,0±0,25	107,4
16	Селянка	42,9±0,62	19,1±0,63	124,6
17	Куяльник	37,3±0,60	17,1±0,46	118,1
18	Польовик	39,2±0,33	18,9±0,63	107,4
19	Отаман	41,7±0,11	16,6±0,54	151,2
20	Бунчук	42,4±0,64	17,2±0,49	146,5
21	Турунчук	35,1±0,10	17,5±0,39	100,6
22	Подяка	45,5±0,53	18,6±0,29	144,6
23	Зміна	37,7±0,31	22,7±0,52	66,1

Примітка. В таблиці наведено середнє значення та стандартна похибка

Вміст загальних цукрів на рослинах, уражених ВЖКЯ, варіював від 35,1 до 45,5%. Мінімальна кількість загальних цукрів спостерігалась на сорті Турунчук і становила 35,1 % (збільшення кількості загальних цукрів на 100,6% порівняно з контролем), максимальна – на сорті Подяка і становила 45,5% (на 144,6%). Решта сортів зайняли проміжне положення за цим показником. Вміст загальних цукрів у контрольних рослинах становив від 14,0 до 22,7% (на сорті Альбатрос одеський та сорті Зміна відповідно). Кількість загальних цукрів у рослинному матеріалі на інфекційному фоні ВЖКЯ перевищував їх вміст на контрольному фоні від 1,6 (на сорті Господина) до 2,8 рази (на сорті Писанка).

Накопичення вуглеводів у листках інфікованої пшениці чітко вказує на погіршення загального стану рослин погіршений, так як ці сполуки є не тільки джерелом енергії рослин, але і вихідним матеріалом для біосинтезу. Внаслідок цього рослини стають більш чутливими до ураження патогенами грибної, бактеріальної, мікоплазменної природи, що безперечно призводить до втрати урожаю цієї культури. Одним із припущень щодо причин накопичення глюкози, фруктози та сахарози у інфікованих вірусом листках рослин було не блокування переміщення вуглеводів із листків, а вплив вірусу на клітини листка і, можливо, пов'язане зі змінами активності ферментних систем, що контролюють взаємоперетворення різних форм вуглеводів [19]. Аналогічні результати отримані Гешеле Е.Е. та співавтори, які показали, що ВЖКЯ призводить до порушення фізіолого-біохімічних процесів у рослині, зокрема, до збільшення кількості вуглеводів [9]. Вміст вуглеводів у здорових рослин відображає нормальний транспортний потік асимілятів, оскільки з місця синтезу – листків – вони розподіляються через стебла в корені і колоски. В уражених рослинах розподіл асимілятів має інший характер. Так, Livingston D. P. та ін. встановили, що інфікування зернових культур вірусом жовтої карликовості ячменю індукує зміни у флоемі, які призводять до погіршення відтоку цукрів з листків у інші органи. Частка простих цукрів у заражених ВЖКЯ рослинах вівса була вищою, ніж у контрольних рослинах [17]. Міщенко Л.Т. у 2009 році відмічала, що інфікування ВЖКЯ рослин вівса викликає збільшення суми цукрів, зокрема, глюкози, фруктози, сахарози, у клітинах мезофілу відбуваються певні зміни, які пригнічують переміщення вуглеводів з листків у інші органи. Однією з причин збільшення вмісту вуглеводів могло бути зниження їхнього відтоку [7].

Отже, проведені нами дослідження показують, що вміст цукрів у рослинах озимої пшениці під впливом

УДК: 612.82:615.21

ВЖКЯ-інфекції суттєво збільшується, що можна пояснити порушенням їх відтоку з листків у інші органи.

Висновок. Таким чином, нами встановлено, що сорти озимої пшениці, які поширені у виробництві на півдні України, високосприйнятливі до ВЖКЯ. Виявлено негативний вплив цього вірусу на фотосинтетичний апарат та метаболізм рослин озимої пшениці усіх досліджуваних сортів, і, як наслідок, суттєве зниження їх врожайності.

Список використаної літератури. 1. Бабаянц Л. Т., Мештерхази А., Вехтер Ф. Методи селекції і оцінки устійливості пшениць і ячменя к болезням в странах членах СЭВ. – Прага, 1988. – 321 с. 2. Бойко А.Л., Силаева А.М., Міщенко Л.Т., Решетник Г.В. Особливості ультратонкої організації клітин мезофілу озимої пшениці за умов вірусної інфекції / А.Л. Бойко, // Цитология и генетика. – 1997. – Т. 31, №5. – С. 71-79. 3. Гуляева І.І., Мілкус Б.Н. Вірусні хвороби зернових колосових // Карантин і захист рослин. – 2012. – №12. – С.15-16. 4. Дутко В.П. Вирус желтой карликовости ячменю в степной зоне Украины // Автореф. дис... канд. биол. наук. – Л., 1974. 5. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П., Перуанский Ю.В., Луковникова Г.А. Методы биохимического исследования растений, 1987. – С. 234-237. 6. Ладыгина М.Е., Тукеева М.И. Биосинтез хлорофилла при вирусном патогенезе у растений // Патологическая физиология и иммунитет растений. Под ред. Чигирева Н.И. М: Изд-во МГУ. – 1976. – С. 43-60. 7. Міщенко Л.Т. Вірусні хвороби озимої пшениці. – К.: Фітосоціоцентр, 2009. – 352 с. 8. Міщенко Л.Т., Дуніч А.А., Дашенко А.В. Вплив вірусної інфекції на вміст фотосинтетичних пігментів у рослинах лопанту анісового // Вісник аграрної науки. – 2011. – № 1. – С. 28-30. 9. Неполноценность колосовых пшеницы на юге Украины / Э.Э. Гешеле, Николенько М.П., Иващенко В.Г., Дутко В.П., Омельченко Л.И. // Научно-технический бюллетень ВСГТ. – Вып 30. – 1977. – С. 31-39. 10. Николенько М. П., Омельченко Л.И. Особенности эпифитотий вируса желтой карликовости ячменю и возможности предупреждения потерь урожая озимой пшеницы, ячменю, тритикале (обзор) // Сельскохозяйственная биология. – 1985. – № 8. – С. 35-38. 11. Омельченко Л. И. Вирусные инфекции зерновых культур // Вісник аграрної науки, 1995. – № 10. – С.19-25. 12. Решетник Г.В. Діагностика вірусних інфекцій пшениці за дії абіотичних чинників: Автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. биол. наук: спец. 03.00.06 "Вірусологія" / Г.В. Решетник. – К., 2010. – 21 с. 13. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика, Минск, 1973. – 320 с. 14. Таран Н.Ю., Оканенко О.А., Сенчугова Н.А., Розгонова О.С., Коць С.Я. Адаптивні реакції рослин квасолі на вірусну інфекцію // III Міжнар конф. "Біоресурси та віруси" (Київ, 11-15 вересня 2001). – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – С. 100. 15. Таранухо Ю.М. Вірусні хвороби смородини чорної і малини у Лісостепу та одержання здорового садивного матеріалу. – Автореф. дис. на здобуття ступ.канд.біол.наук. спец. 0300.06 – вірусологія. – К., 2010. – 24 с. 16. Шпаар Д., Рабенштайн Ф., Кастирр У., Хабекус А. Вирусные болезни – серьезная проблема для выращивания зерновых в Европе //Вести Национальной академии наук Беларуси. Серия аграрных наук. – 2006. – № 3. – С. 60- 70. 17. Livingston D.P., Gildow F.E., Liu S.-Y. Barley yellow dwarf virus: effects on carbohydrate metabolism in oat (Avena sativa) during cold hardening// New Phytol. – 1998. – N 140. – P. 699-707. 18. Rathak P.V., Gachande B.D. Change of Pigment Contents of Virus Infected Tomato Plant // Asian Journal of Biol. & Biotechnol. – 2012. – 1, No 1, – P. 1-4. 19. Watson M.A., Watson D. J. The effect of infection with beet yellows and beet mosaic virus on the carbohydrate content of sugar beet leaves and on translocation // Ann. Appl. Biol. – 1951. – Vol. 38. – P. 276-288.

Надійшла до редколегії 15.01.13

О. Макаренко, д-р мед. наук., Є. Тукаленко, канд. біол. наук, В. Пахольченко, інж., О. Коваленко, інж., В. Крушінський, асп., М. Макарчук, д-р біол. наук

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ПОТЕНЦІЙНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ M2 ТА ЦЕРЕБРАЛ НА ПОВЕДІНКУ ІНТАКТНИХ ЩУРІВ

Вивчено поведінку щурів у тестах відкритого поля, піднятого хрестоподібного лабіринту та човникової камери після одноразового внутрішньоочеревинного введення потенційних лікарських засобів M2 та Церебрал. Показано відсутність впливу цих засобів на вищу нервову діяльність у найбільшчі терміни після їх застосування.

Ключові слова: Церебрал, інсульт, тест відкрите поле, хрестоподібний лабіринт.

Изучено поведение крыс в тестах открытого поля, поднятого крестообразного лабиринта и челночной камеры после однократного внутрибрюшинного введения потенциальных лекарственных средств M2 и Церебрала. Показано отсутствие влияния этих средств на высшую нервную деятельность в ближайшие сроки после их применения.

Ключевые слова: Церебрал, инсульт, тест открытое поле, крестообразный лабиринт.

The rats' behavior in Open Field, Elevated Plus Maze and Shuttle-box tests after single intraperitoneal introduction of M2 and Cerebral potential drugs was studied. The absence of these potential drugs influence on high nervous activity in short time after their application was shown.

Keywords: Cerebral, apoplexy, test open field, elevated plus maze.

Вступ. Розробка фармакологічних препаратів для лікування інсультів є актуальною проблемою сучасної нейронауки. Багатоступенева система відбору потенцій-

них лікарських засобів включає в себе обов'язкове виконання вимог щодо доклінічного дослідження властивостей цих препаратів згідно національних та міжнародних

© Макаренко О., Тукаленко Є., Пахольченко В., Коваленко О., Крушінський В., Макарчук М., 2013

стандартів [1,2], проведення численних уточнюючих експериментів за різних умов. Результатом такої роботи має бути не тільки розробка більш ефективних лікувальних засобів, порівняно з існуючими, але й більш безпечними щодо побічної дії, токсичного або геномодифікуючого впливу на організм. На сьогоднішній день Церебрал [3] та M2 [4] розглядаються як потенційні лікарські засоби, що вимагають подальшого доклінічного експериментального вивчення. Ці засоби є комплексами природного походження, до складу яких входять амінокислоти та пептиди з різною молекулярною масою. Існують експериментальні дослідження щодо впливу цих засобів [5-9]. Метою роботи було дослідити вплив M2 та Церебралу на поведінку інтактних щурів для оцінки можливості розвитку порушень вищої нервової діяльності безпосередньо після введення цих засобів.

Об'єкт та методи досліджень. Дослідження проведені на 54 аутобредних статевозрілих білих щурах самцях, які утримувалися в умовах віварію за природного режиму освітлення. Доступ до води та їжі був вільним. Дослідження поведінкової активності тварин складалося з двох експериментів (вплив кожного препарату досліджувався окремо), що були проведені за однаковою схемою: спочатку проводили індивідуальну розмітку усіх щурів, після цього тестували поведінкову активність тварин за методикою відкритого поля. Ґрунтуючись на отриманих фонових даних щурів розподіляли на дві врівноважені групи, тобто такі, які вірогідно не розрізнялися за показниками поведінкової активності. Після цього через два дні проводили дослідження впливу одного з засобів. Перша (дослідна) група тварин отримувала досліджуваний засіб, а друга (контрольна) – ізотонічний розчин (0,9 % NaCl). Через п'ятнадцять хвилин після цього проводили дослідження поведінки щурів послідовно у відкритому полі та у піднятому хрестоподібному лабіринті. Дослідження умовнорефлекторної діяльності щурів проводили в окремому експерименті за такою схемою: спочатку тварин навчали активно униканню аверсивного подразника (2 тестування), після того розподіляли щурів на чотири врівноважені групи, які отримували: перша – 0,9 % NaCl (контроль), друга – M2, третя – Церебрал, четверта – M2 та Церебрал (M2 вводили за добу до інфузії Церебралу і тестування). Через двадцять хвилин після введення засобів проводили дослідження інструментальної діяльності тварин у човниковій камері. Тварини відповідних груп одноразово отримували розчин засобу або 0,9 % NaCl шляхом внутрішньоочеревинної інфузії. Індивідуальне дозування як Церебралу, так і M2 становило 2 мг/кг.

Поведінкову активність щурів досліджували з використанням методик відкритого поля та піднятого хрестоподібного лабіринту. У відкритому полі досліджували вроджену локомоторну поведінку щурів впродовж 3 хв. Визначали та аналізували показники рухової та дослідницької активності (кількість відвіданих центральних та пристінкових квадратів, вертикальних стійок) та параметри ґрумінгу (кількість та тривалість актів) та вегетативні показники (кількість більш дефекацій та кількість уринацій). У піднятому хрестоподібному лабіринті досліджували поведінкову активність щурів впродовж 3 хв. Визначали та аналізували показники рухової та дослідницької активності (кількість та тривалість виходів у відкриті рукави лабіринту, кількість вертикальних стійок, кількість заглядань вниз із відкритих ділянок рукавів, кількість переходів через центральну платформу лабіринту), а також параметри ґрумінгу (кількість та тривалість актів). Умовнорефлекторну діяльність досліджували у човниковій камері. Використовували один безумовний (електричний струм 0,8 мА) та один умов-

ний подразник (звук частотою 3 кГц і амплітудою 75 дБ). Параметри застосування сигналів були наступними: тривалість дії умовного подразника до початку дії безумовного – 4 секунди, тривалість одночасної дії умовного та безумовного подразників – 10 секунд, міжсигнальний період – $25 \pm 22,5$ секунд, кількість спроб – 100. Тривалість міжсигнального періоду була рандомізованою щоб запобігти уникання за Сідманом. Визначали та аналізували найбільш інформативні показники умовнорефлекторної діяльності: загальну кількість умовних реакцій активного уникнення, середній час латентного періоду локомоторної реакції (секунди), середню кількість умовних реакцій у серії, кількість міжсигнальних реакцій.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням параметричних та непараметричних статистичних методів. Значущість різниці між вибірками оцінювали з використанням критерію Мана-Уїтні та Стьюдента. Критичний рівень значущості (ймовірність помилкового відхилення нульової гіпотези) був менше 5 %. Результати описової статистики ненормально розподілених варіантів представлені у вигляді $Me[25\%;75\%]$ (тобто медіана[інтерквартильний розмах]), а нормально розподілених – у вигляді $M \pm m$ (тобто оцінка середнього ± оцінка похибки середнього). При розрахунках використовували комп'ютерні програми Microsoft Office Excel 2003 та Statistica 6.0.

Результати та їх обговорення. У першому експерименті вивчали вплив засобу M2 на показники поведінкової активності щурів. Дослідження не виявило різниці між тваринами які отримували та не отримували цей засіб. За результатами першого (фонового) тестування у відкритому полі щури були розподілені на дві групи – контрольну та експериментальну (тварини, які отримували засіб M2), які не відрізнялися одна від іншої за показниками поведінкової активності. Рівень показників локомоторної активності у цих групах був наступним: кількість перетнутих периферичних квадратів відкритого поля – 56 [18;68] у контрольних тварин та 52 [22;64] у щурів експериментальної групи, кількість перетнутих центральних квадратів – 3 [3;13] у контрольній та 4 [3;8] у експериментальній групах щурів відповідно. Фоновий рівень дослідницької активності становив у контрольних тварин 9 [3;9] стійок, тоді як у щурів з експериментальної групи значення цього показника було 10 [4;13] стійок. Показники ґрумінгової активності також не відрізнялися у тварин різних груп, так, частота, сумарна тривалість та середня тривалість ґрумінгу становили у щурів контрольної групи відповідно 3 [2;5], 21 [11;29] с та 6 [4;7] с, тоді як у експериментальних тварин ці показники складали відповідно 2 [1;4], 17 [1;26] с та 6 [1;8] с. Вегетативні показники не відрізнялися у контрольних та експериментальних тварин і були наступними: кількість більш дефекацій 3 [2;5] у тварин контрольної групи та 2 [1;5] у тварин експериментальної групи, частота уринації – 4 [0;9] та 1 [0;3] відповідно у контрольних та експериментальних щурів.

Дослідження впливу засобу M2 на показники поведінки щурів проводили через два дні після розподілу тварин на групи. Не було виявлено різниці у показниках поведінки експериментальних та контрольних щурів у відкритому полі. Рівень локомоторної активності у цих групах був наступним: кількість перетнутих периферичних квадратів відкритого поля – 17 [4;29] у контрольних тварин та 10 [4;25] у щурів експериментальної групи, кількість перетнутих центральних квадратів – 4 [3;6] у контрольній та 3 [2;4] у експериментальній групах щурів відповідно. Показник дослідницької активності становив у контрольних тварин 2 [1;4] стійок, тоді як у щурів з експериментальної групи значення цього показника

складало 3 [1;5] стійок. Показники грумінгової активності також не відрізнялися у тварин різних груп, так, частота, сумарна тривалість та середня тривалість грумінгу становили у щурів контрольної групи відповідно 1 [0;2], 6 [0;22] с та 4 [0;11] с, тоді як у експериментальних тварин ці показники становили відповідно 1 [0;2], 8 [0;17] с та 4 [0;11] с. Вегетативні показники не також відрізнялися у контрольних та експериментальних тварин і були наступними: кількість болей дефекації 4 [2;6] у тварин контрольної групи та 4 [3;5] у тварин експериментальної групи, частота уринації – 6 [4;8] та 4 [2;7] відповідно у контрольних та експериментальних щурів. Після дослідження поведінки у відкритому полі щури тестувалися у піднятому хрестоподібному лабіринті. Відмінностей у поведінкових показниках, які отримані із використанням цієї методики після статистичного аналізу також не знайдено. Поведінкові показники мали наступні рівні: кількість заходів у відкриті рукава у тварин контрольної групи – 1 [0;1], а у експериментальних щурів – 1 [0;1]; час перебування у відкритих рукавах становив відповідно у тварин контрольної та експериментальної груп 6 [0;20] с та 14 [0;32] с. Показники кількості заглядань у відкриті рукава та вниз становили у контрольних щурів відповідно 5 [1;8] та 3 [1;8], тоді як у експериментальних тварин їх значення були 5 [1;7] та 5 [2;7] відповідно. Показники кількості перетинань центру та кількості орієнтацій також не відрізнялися і становили у контрольних тварин відповідно 3 [1;5] та 2 [0;3] та у експериментальних тварин відповідно 4 [2;7] та 2 [1;4]. Рівні показників грумінгової активності у хрестоподібному піднятому лабіринті також були однаковими у тварин різних груп, так, частота, сумарна тривалість та середня тривалість грумінгу становили у щурів контрольної групи відповідно 1 [0;2], 3 [0;17] с та 2 [0;11] с, тоді як у експериментальних тварин ці показники становили відповідно 0 [0;1], 0 [0;13] с та 0 [0;6] с.

Отримані результати дозволяють зробити висновок про відсутність змін поведінки щурів у тестах відкритого поля та піднятого хрестоподібного лабіринту після введення M2, що свідчить про відсутність істотного впливу цього засобу на вищу нервову діяльність інтактних тварин. У другому експерименті вивчали вплив засобу Церебрал на показники поведінки щурів. Дослідження не виявило різниці між тваринами які отримували та не отримували цей засіб. За результатами першого (фоновому) тестування у відкритому полі щури були розподілені на дві групи – контрольну та експериментальну (тварини, які отримували засіб Церебрал), які не відрізнялися одна від іншої за показниками поведінкової активності. Рівень показників локомоторної активності у цих групах був наступним: кількість перетнутих периферичних квадратів відкритого поля – 4 [2;34] у контрольних тварин та 8 [3;27] у щурів експериментальної групи, кількість перетнутих центральних квадратів – 2 [1;7] у контрольній та 2 [1;6] у експериментальній групах щурів відповідно. Фоновий рівень дослідницької активності становив у контрольних тварин 1 [0;5] стійок, тоді як у щурів з експериментальної групи значення цього показника складало 2 [1;3] стійок. Показники грумінгової активності також не відрізнялися у тварин різних груп, так, частота та сумарна тривалість грумінгу становили у щурів контрольної групи відповідно 1 [0;2] та 1 [0;12] с, тоді як у експериментальних тварин ці показники становили відповідно 1 [0;2] та 8 [0;32] с. Вегетативні показники не відрізнялися у контрольних та експериментальних тварин і були наступними: кількість болей дефекації 3 [1;3] у тварин контрольної групи та 3 [2;5] у тварин експериментальної групи, частота уринації – 2 [0;3] та 2 [0;4] відповідно у контрольних та ек-

спериментальних щурів. Дослідження впливу засобу Церебрал на показники поведінки щурів проводили через два дні після розподілу тварин на групи. Різниця у показниках поведінки експериментальних та контрольних щурів у відкритому полі виявлено не було. Рівень локомоторної активності у цих групах був наступним: кількість перетнутих периферичних квадратів відкритого поля – 4 [2;21] у контрольних тварин та 2 [1;52] у щурів експериментальної групи, кількість перетнутих центральних квадратів – 3 [2;6] у контрольній та 3 [2;3] у експериментальній групах щурів відповідно. Показник дослідницької активності становив у контрольних тварин 1 [1;1] стійок, тоді як у щурів з експериментальної групи значення цього показника складало 1 [0;4] стійок. Показники грумінгової активності також не відрізнялися у тварин різних груп, так, частота та сумарна тривалість грумінгу становили у щурів контрольної групи відповідно 0 [0;0] та 0 [0;6] с, тоді як у експериментальних тварин ці показники становили відповідно 0 [0;0] та 0 [0;4] с. Вегетативні показники не також відрізнялися у контрольних та експериментальних тварин і були наступними: кількість болей дефекації 4 [1;6] у тварин контрольної групи та 5 [2;5] у тварин експериментальної групи, частота уринації – 1 [0;3] та 1 [0;1] відповідно у контрольних та експериментальних щурів.

Після дослідження поведінки у відкритому полі щури тестувалися у піднятому хрестоподібному лабіринті. Відмінностей у поведінкових показниках, які отримані із використанням цієї методики після статистичного аналізу також не знайдено. Поведінкові показники мали наступні рівні: час перебування у відкритих рукавах становив відповідно у тварин контрольної та експериментальної груп 0 [0;0] с та 0 [0;7] с. Показники кількості заглядань у відкриті рукава та вниз становили у контрольних щурів 1 [1;2], тоді як у експериментальних тварин їх значення були 1 [0;2]. Показники кількості перетинань центру та кількості орієнтацій також не відрізнялися і становили у контрольних тварин відповідно 2 [1;2] та 1 [0;2] та у експериментальних тварин відповідно 1 [0;2] та 0 [0;1]. Рівні показників грумінгової активності у хрестоподібному піднятому лабіринті також були однаковими у тварин різних груп, так, частота та сумарна тривалість грумінгу становили у щурів контрольної групи відповідно 0 [0;1] та 0 [0;6] с, тоді як у експериментальних тварин ці показники становили відповідно 1 [0;1] та 1 [0;12] с. Отримані результати дозволяють зробити висновок про відсутність змін поведінки щурів у тестах відкритого поля та піднятого хрестоподібного лабіринту після введення Церебралу, що свідчить про відсутність суттєвого впливу цього засобу на вищу нервову діяльність у інтактних тварин. У третьому експерименті проводили дослідження впливу на показники поведінки уникання щурів у човниковій камері засобів M2 та Церебрал як за нарізного, так і за комбінованого їх застосування. Дослідження не виявило різниці між тваринами які отримували та не отримували ці засоби. За результатами двох фонових тестувань тварини були розподілені на чотири рівноважені групи: перша – контроль, друга – щури, які отримували M2, третя – тварини, які отримували Церебрал, четверта – тварини, які отримували M2 та Церебрал (у цій групі M2 вводився за добу до інфузії Церебралу та тестування). Середні значення показників поведінки до введення засобів були наступними. Кількість умовних реакцій у контрольних тварин становила 46 ± 3 , у тварин другої групи – 45 ± 4 , третьої та четвертої відповідно 45 ± 4 та 47 ± 3 . Латентний період реакції уникнення складав у першій, другій, третій та четвертій групах відповідно $3,58 \pm 0,05$ с, $3,59 \pm 0,04$ с, $3,51 \pm 0,06$ с та $3,56 \pm 0,05$ с. Кількість умов-

них реакцій в серії становила у контрольних тварин – $2,3 \pm 0,2$, у тварин другої групи – $2,3 \pm 0,2$, третьої та четвертої відповідно $2,5 \pm 0,4$ та $2,3 \pm 0,3$. Кількість міжсигнальних реакцій у першій, другій, третій та четвертій групах відповідно складала 16 ± 2 , 24 ± 5 , 21 ± 2 та 21 ± 4 . Через два дні після розподілу тварин по групах проводили вивчення впливу засобів М2 та Церебрал на показники поведінки уникання. Кількість умовних реакцій у контрольних тварин становила 51 ± 4 , у тварин, які отримували М2 – 51 ± 4 , у тварин, які отримували Церебрал – 46 ± 4 та у тварин, які отримували М2 та Церебрал – 43 ± 6 . Латентний період реакції уникнення складав у першій, другій, третій та четвертій групах відповідно $3,61 \pm 0,04$ с, $3,56 \pm 0,04$ с, $3,58 \pm 0,05$ с та $3,62 \pm 0,07$ с. Кількість умовних реакцій в серії становила у контрольних тварин – $2,3 \pm 0,3$, у тварин, які отримували М2 – $2,4 \pm 0,2$, у тварин, які отримували Церебрал $2,3 \pm 0,3$ та у щурів четвертої групи $2,2 \pm 0,3$. Кількість міжсигнальних реакцій у контрольних тварин становила 30 ± 12 , у щурів, які отримували М2 – 32 ± 7 , у тварин, які отримували Церебрал 46 ± 8 , та у щурів, які отримували М2 та Церебрал – 41 ± 13 . Статистично значущих різниць між показниками інструментальної діяльності у тварин експериментальних груп у порівнянні з контролем не було виявлено у жодному випадку, що свідчить про відсутність впливу М2 та Церебралу на умовнорефлекторну інструментальну поведінку щурів.

Таким чином, дослідження поведінкової активності щурів із застосуванням методик відкритого поля та хрестоподібного піднятого лабіринту, як і вивчення умовнорефлекторної діяльності тварин у човниковій камері, показало, що внутрішньоочеревинне введення досліджуваних потенційних лікарських засобів Церебралу або М2 не впливає на вищу нервову діяльність інтактних тварин у найближчі терміни після застосування. З огляду на те, що ці засоби розглядаються як можливі засоби для лікування геморагічного інсульту, уявляється цікавим вивчення у подальшому наявності позитивного впливу цих потенційних лікувальних засобів

на вищу нервову діяльність тварин в умовах експериментальної патології.

Висновки. Проведене вивчення поведінкової активності щурів за методиками відкритого поля та хрестоподібного піднятого лабіринту, як і дослідження умовнорефлекторної діяльності щурів у човниковій камері, показало відсутність впливу М2 та Церебралу на вищу нервову діяльність інтактних тварин у найближчі терміни після застосування цих потенційних лікувальних засобів.

Список використаної літератури. 1. Порядок проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів (Наказ МОЗ від 14.12.2009 № 944) // Офіційний вісник України від 01.02.2010. – 2010 р., № 4, стор. 61, ст. 176. 2. Directive 2004/10/EC of the European Parliament and of the Council of 11 February 2004 on the harmonisation of laws, regulations and administrative provisions relating to the application of the principles of good laboratory practice and the verification of their applications for tests on chemical substances (codified version) // Official Journal of the European Union, 20.2.2004, L 50/44-L 50/59. 3. Королев Ю.Н., Макаренко А.Н. Средство "Церебрал" для лечения инсульта и способ его получения. Патент РФ №2151605 от 27.06.2000. – Изобретения. Полезные модели. – М., 2000. – №18 (1). – 27.06.2000. – с.301. 4. Макаренко А.М., Морозов С.Г., Кульчицкий А.Е., Широбокова Л.П., Божко А.М. Лекарственный препарат для лечения гипоксических и токсических митохондриальной дисфункций // Патент Росс. Федерации № С1., Заявка № 2008136321/13., Официальный изобр. – М., 2010, №8. 5. A.N.Makarenko A.Y., Pustovarov "Cerebral" – brain-derived neurotrophin regulator for acute stroke and stress brain diseases management // Abst. of the 5 th int. Conference on stroke and 2nd Conference of the Mediterranean Stroke Society (Istanbul, Turkey, March 21-24.2001). – Eur. Journal of Neurol. – Vol.8. – Suppl.2. – March 2001. – P.40. – N134. 6. Макаренко А.Н., Аркадьев В.Г., Новик Л.В., Пустоваров А.Ю., Максимов Ю.Н. Влияние "Церебрала" – перспективного антиинсультного средства на иммунную систему при геморрагическом инсульте // Экспериментальная и клиническая фармакология. – М., 2002. – 65. – №2. – С.20-23. 7. Макаренко А.Н., Голобородько Е.В., Косицын Н.С., Назимов И.В., Свинов М.М. Сравнительное изучение антиинсультной активности Церебрала и его отдельных субфракций в эксперименте // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2005. – Т.68. – С.15-20. 8. Макаренко А.Н., Широбокова Л.П., Шахметова А.М. Фармакопротекторное действие Церебрала и Митохондрина при гемической гипоксии, вызванной острым отравлением нитробензолом // Токсикологический вестник. – 2002, №4. – С.14-16. 9. Макаренко А.Н., Клебанский Е.О., Широбокова Л.П. Антигипоксическая активность нового интраорганогенного фармакологического средства митокорректин // Журн. Экспериментальная и клиническая фармакология. – №1. – Т.65. – 2002. – С.68-72.

Надійшла до редколегії 17.10.12

УДК 576.895.771

Н. Кілючицька, асп.

АСОЦІАЦІЇ ГІДРОБІОНТІВ В КУЛІЦІДОГЕННИХ ВОДОЙМАХ М. КИЄВА

Наведений список та проаналізовано розподіл гідробіонтів, біотопічно асоційованих з преімагінальними фазами розвитку кровосисних комарів.

Ключові слова: гідро біонти, преімагінальні фази, кровососні комари.

Приведен список и проанализировано распределение гидробионтов, биотопическое ассоциированных с преимагинальными фазами развития кровососущих комаров.

Ключевые слова: гидробионты, преимагинальные фазы, кровососущие комары.

Are listed and analyzed the distribution of aquatic organisms, which biotopical associated with preimaginal phases of blood-sucking mosquitoes.

Keywords: aquatic organisms, preimaginal phases, blood-sucking mosquitoes.

Вступ. Антропогенні перетворення ландшафту суттєво змінюють умови існування тварин, що необхідно враховувати при плануванні та проведенні заходів, спрямованих на обмеження чисельності кровосисних комарів. Створення штучних водойм цілком сприяє благоустрою та оздоровленню території, однак, у випадку порушення норм їх експлуатації, створюються умови, сприятливі для виплоду комарів. Особливо це стосується затоплених водою підвальних приміщень, що не тільки спричинює руйнування житлового фонду, а й масовий цілорічний виплод антропофільного комара *Culex pipiens molestus* Forsk.

З позицій загальної екології, популяції кровосисних комарів роду *Ochlerotatus* і частково *Aedes* – це відкриті невривноважені системи, захищені від наслідків катастрофічного впливу середовища r-стратегією. Їм прита-

манні швидкий розвиток, висока періодична чисельність популяцій та значний адаптивний потенціал. Основними біотопами, де відбувається розвиток преімагінальних стадій цих комарів, є тимчасові та напівпостійні водойми. Комарі роду *Anopheles* (і, частково, *Culex* та *Culiseta*), що виплоджуються переважно в постійних водоймах, більш схильні до K-стратегії. Тому велике видове різноманіття та висока щільність популяцій конкурентів, паразитів і хижаків у постійних водоймах є факторами, здатними ефективно знижувати щільність популяцій цих комарів на преімагінальних фазах розвитку. В узагальнюючому зведенні Д.В. Дженкінса (*D.W. Jenkins*) [7] наведені дані про 212 видів збудників захворювань і паразитів комарів та про 448 видів тварин, що живляться їх личинками. На території України проведені окремі спостереження в природних умовах

© Кілючицька Н., 2013

по вивченню ролі гідробіонтів, біотопічно асоційованих з преімагінальними фазами комарів [2, 6], та експериментальні дослідження триголкової колючки – *Gasterosteus aculeatus* L. як ларвофага *Aedes aegypti* L. [1]. В умовах урбанізованого ландшафту подібні дослідження раніше не проводилися, що й стимулювало інтерес до вивчення цього питання.

Матеріал і методи досліджень. Серед обстежених у 2008-2012 рр. у м. Києві водойм різного типу – місць виплоду личинок комарів – в 57-и були зареєстровані асоційовані з ними гідробіонти. Збір та визначення матеріалу проводили за традиційними методами [2,4,5].

Результати та їх обговорення. В залежності від походження, ступеня антропогенного впливу та терміну існування, місця виплоду личинок комарів ми розділили на природні та антропогенні, пересихаючі (тимчасові та напівпостійні) та непересихаючі (постійні). Це дозволило не лише типізувати місця виплоду личинок, а й встановити особливості формування асоціативних комплексів гідробіонтів у цих водоймах. При цьому виявилось, що в тимчасових водоймах різного типу щільність преімагінальних стадій комарів на 1-2 порядки вища (10^2 - 10^3 екз/м² і більше), ніж у постійних. Це стосується не лише комарів роду *Ochlerotatus*, які зазвичай домінують у тимчасових водоймах весною, а й літніх поліциклічних видів комарів з роду *Aedes* (а іноді й представників роду *Culex*). Одною з головних причин цього, на нашу думку, є різниця в якісному і кількісному складі гідробіонтів, асоційованих у цих водоймах з преімагінальними фазами комарів.

У непересихаючих природних водоймах (річки, струмки, озера та заболоченості) перші личинки комарів з'являються не раніше кінця квітня – початку травня, а виплод продовжується до кінця жовтня – початку листопада. Протягом теплого сезону річки, струмки та озера слугують місцем виплоду 9-14-и видів комарів. Переважають найбільш екологічно пластичні та синантропні – *Culex p. pipiens* L., *Aedes vexans* Mg., *Ae. cinereus* Mg., *Coquillettidia richiardii* (Fic.), *Anopheles maculipennis* Mg. та *An. claviger* Mg. В різноманітних заболоченостях зустрічається 16 видів комарів. Найбільше видове різноманіття (види лісостепового еколого-фауністичного комплексу, переважно з роду *Ochlerotatus*) зареєстровано тут у першій половині теплого сезону. У другій половині літа та восени найчастіше зустрічались *Cx. p. pipiens*, *An. maculipennis*, *Coq. richiardii*, *Ochlerotatus c. dorsalis* Mg. та *Culiseta annulata* Schr. Щільність заселення личинками пов'язана, перш за все, з наявністю щільних заростей водних – "друге дно" та прибережних напівводних вищих рослин, які слугують прихистком для водних фаз комарів. На зарослих ділянках щільність личинок складала 35-50 екз/м², а в місцях, де прибережна смуга була позбавлена рослинності, – 3-10 екз/м² (і то лише в окремих осередках, за наявності "другого дна"). До категорії постійних водойм антропогенного походження нами віднесені різного типу

водосховища, озера, ставки, канали, кар'єри та басейни. В цих водоймах зареєстровано 17 видів комарів. Основне ядро складають поліциклічні види: *An. maculipennis*, *Cx. pipiens*, та *O. c. dorsalis*. Як і в природних водоймах, щільність заселення личинками пов'язана, перш за все, зі ступенем заростання водною та напівводною рослинністю. На зарослих ділянках щільність личинок складала 15-20 екз/м², а в місцях, де берег був укріплений бетонними плитами, – 3-5 екз/м² (за наявності "другого дна").

В постійних природних водоймах з усталеними біоценозами виявлена найбільш різноманітна фауна гідробіонтів. З преімагінальними фазами комарів ці співмешканці мають синергетичні (бактерії, одноклітинні водорості та гриби), нейтральні (вільноживучі нематоди, малощетинкові черви, колемболи) або антагоністичні (конкуренція за їжу – більшість ракоподібних, личинки двокрилих, зокрема хірономіди; хижак-жертва – клопи та їх личинки, личинки бабок, водяні жуки та їх личинки, риби) взаємовідносини. Харчові конкуренти навіть при значній щільності популяцій не здатні відчутно пригнічувати розвиток личинок комарів. Зокрема, не зважаючи на дуже високу щільність в окремих водоймах представників *Cladocera*, нами не зареєстровано негативного впливу цих співмешканців на щільність личинок популяцій комарів. Лише антагоністичний тип взаємовідносин відіграє провідну роль у зниженні чисельності кровососів у зв'язку з обмеженістю біотопів, придатних для розвитку їх личинок. Тому в постійних водоймах більш-менш значну щільність личинок можна спостерігати лише на мілководдях, в той чи інший спосіб відмежованих від основної водойми, тобто на ділянках, що за гідрологічним режимом нагадують тимчасові водойми. Серед найбільш ефективних ларвофагів слід відмітити личинок та імаго клопів (*Notonecta glauca* L., *Ilyocoris cimicoides* L., *Corixa punctata* Ill., *C. dentipes* Thoms. тощо), личинок водних жуків (*Dytiscidae*), бабок та хаоборід (весною – *Mochlonyx culiciformis* De Geer) а також два види риб (таблиця 1). Останні найбільш ефективно полюють на личинок і лялечок комарів у чистих та помірно зарослих природних водоймах, а при штучному внесенні – і в водоймах антропогенного походження.

На окрему увагу заслуговують веслоногі ракоподібні, 12 видів яких зареєстровано нами в різних типах куліцидогенних водойм (*Acanthocyclops americanus* Marsh., *A. gigas* (Claus), *A. vernalis* (Sars), *A. viridis* (Jur.), *Canthocamptus stephelinus* (Jur.), *Cyclops furcifer* Claus, *C. strenuus strenuus* (Fisch.), *C. vicinus* Ulyanin, *Diacyclops bicuspidatus* (Rehb.), *D. bisetosus* (Rehb.), *Eucyclops serrulatus* (Fisch.), *Macrocyclops albidus* (Jur.)). Відомо, що веслоногі ракоподібні облігатно задіяні в життєвих циклах паразитів комарів – грибів роду *Coelomomyces* та мікроспориїд з родів *Amblyospora* і *Parathelohania* [3], що й визначає їх роль і значення.

Таблиця 1. Зустрічальність багатоклітинних гідробіонтів, топічно асоційованих з преімагінальними фазами розвитку кровосисних комарів (усереднені дані по м. Київ за 2008-2011 рр.)

Систематичні групи гідробіонтів та їх представники	Їх зустрічальність (%) у водоймах:	
	Пересихаючих	непересихаючих
Кл. Hydrozoa – Гідроїдні – <i>Chlorohydra viridissima</i> (Pallas, 1766) (Schulze, 1914)	–	0,1
Кл. Seriata – Планарії	–	2,0
Кл. Oligochaeta – Малощетинкові черви	2,8	2,0
Кл. Acari – Кліщі; Родина Hydracarina – Водні кліщі	7,0	7,8
Кл. Branchiopoda – Зяброногі раки; Ряд Cladocera – Гіллястовуси	18,3	10,6
Кл. Maxillopoda – Максипододи; Ряд Cyclopoida – Циклопоїди*	21,1	9,4
Кл. Ostracoda – Черепашкові раки	9,9	3,9
Кл. Malacostraca – Вищі раки: Ряд Amphipoda – Бокоплави	– –	3,9 3,9
..... Ряд Isopoda – Рівноногі		
Кл. Gastropoda – Черевоногі молюски	2,6	2,8

Закінчення табл. 1

Систематичні групи гідробіонтів та їх представники	їх зустрічальність (%) у водоймах:	
	Пересихаючих	непересихаючих
Кл. Entognatha – Покритошелепні; Ряд Collembola – Ногохвістки	–	1,7
Кл. Ectognatha – Комахи: Ряд Ephemeroptera – Одноденки		
..... Ряд Plecoptera – Веснянки		
..... Ряд Hemiptera – Клопи		
..... Ряд Odonata – Бабки	Ряд Coleoptera – Жуки	
– личинки	Жуки – імаго	
..... Ряд Trichoptera – Волохокрильці	5,6 – 2,8 1,4	2,0 2,0 7,2 7,2
..... Ряд Diptera – Двокрилі: Родина:	9,9 1,4 5,6	8,3 9,4 5,0 2,8
Chironomidae – Дзвінці	7,0 4,2 1,4 1,4	7,8 1,7 2,8
..... Chaoboridae – Перистовусі комарі		
..... Dixidae – Земноводні комарики		
..... Syrphidae – Мухи дзюрчали		
Кл. Pisces – Риби: <i>Gasterosteus aculeatus</i> L. – 3-голова колючка	– –	1,0 1,0
<i>Carassius auratus gibelio</i> (Bloch.) – карась сріблястий		

* – список видів Cyclopoida надано в тексті

В тимчасових водоймах зареєстровано розвиток личинок 18-и видів комарів. Весною лівову частку складають личинки фенологічно весняного комплексу з роду *Ochlerotatus*. Влітку домінують: *O. c. dorsalis*, *Ae. vexans* та *Ae. cinereus*. Наприкінці літа – восени у водоймах, наповнених рясними дощами, переважають *Ae. vexans*, *Cx. pipiens* та *An. maculipennis*; в окремі "мокрі" роки спостерігали навіть повторний виплод личинок "весняних" видів – *Ochlerotatus cantans* Mg. та *O. cataphylla* Dyar. Для тимчасових водойм антропогенного походження (придорожні кувети, резервуари з водою, затоплені підвали) характерні збіднений видовий

склад (1-7 видів), але висока щільність личинок комарів. Весною в куветах і канавах переважно зустрічаються личинки роду *Ochlerotatus*, а влітку домінує *Cx. pipiens*, в меншій мірі представлені *An. maculipennis* та *O. c. dorsalis*. Як показали регулярні спостереження за відкритою тимчасовою водоймою, проведені нами у 2008 році, угруповання гідробіонтів цієї водойми суттєво відрізнялося від населення постійних водойм не лише за щільністю поселення а й за динамікою розвитку. Перше обстеження було проведене з появою перших лялечок комарів, наступні – з інтервалом у 5 діб до повного пересихання водойми (таблиця 2).

Таблиця 2. Часова динаміка зміни щільності поселення гідробіонтів у тимчасовій водоймі (парк Дружби народів, 17-27 серпня 2008 року)

Систематичні групи гідробіонтів та їх представники	Щільність поселення, екз./м ³		
	I збір – 17.08.	II збір – 22.08.	III збір – 27.08.
Кл. Ectognatha, Ряд Diptera, Родина Culicidae – Кровосисні комарі (всього): личинки	2 959,0 156,0	1 490,0 1 120,0	106,3 23,7
в тому числі: личинки <i>Ochlerotatus c. dorsalis</i> (Mg.)	1 785,0 – –	204,0 1,0 1,0	12,1 – – 31,6 62,6
..... личинки <i>Anopheles maculipennis</i> Mg.	474,0 700,0	1 107,0 177,0	
..... личинки <i>Anopheles</i> sp.			
..... личинки <i>Culex pipiens pipiens</i> L.			
..... личинки <i>Culex</i> sp.			
Кл. Branchiopoda, ряд Cladocera	117,0	727,0	1006,0
Кл. Ostracoda	–	4,7	–
Кл. Ectognatha (larvae): Ряд Ephemeroptera – <i>Cloëna dipterum</i> (L.)	– – – –	3,0 0,5 1,5	58,0 0,5 – – 1,1 5,3
Ряд Odonata – <i>Aeschna</i> sp.	7,5 2,3	0,6 9,0 51,0	10,5 –
Ряд Hemiptera – <i>Corixa</i> sp.,	– 112,6	1,2 101,1	
..... <i>Gerris</i> sp.			
Ряд Coleoptera – <i>Rhantus</i> sp.			
Ряд Diptera, Родина Chironomidae			
..... Родина Chaoboridae:			
..... <i>Chaoborus flavicans</i> Mg.			
..... <i>Mochlonyx martini</i> Edw.			
Кл. Acari: Hydracarina	–	3,0	–
Кл. Gastropoda: <i>Limnaea (Galba) truncatula</i> Müll.	– 6,4	1,5 7,7	– –
..... <i>Planorbis planorbis</i> L.			

Узагальнюючи отримані результати, можна констатувати, що гідробіонти, асоційовані у тимчасових водоймах з комарами, представлені як ефемерними (тими, що на стадіях спокою діапазують в мулі висохлої водойми), так і адвентивними представниками. Після пересихання в цих водоймах накопичується величезна кількість яєць комарів *Ochlerotatus* та *Aedes*, а супутні їм гідробіонти або переходять до діапаузи, або гинуть, або ж активно залишають ці території. При наступному заповненні водою фауна тимчасових водойм відроджується заново. Прибулі види комарів (рр. *Anopheles* і *Culex*) та хижих комах (хаоборида, імаго жуків та клопів) з'являються там лише через певний проміжок часу. Відсутнього впливу на щільність преімагінальних фаз комарів *Ochlerotatus* та *Aedes* хижаків не мають, бо комарі встигають завершити

розвиток до імаго швидше, ніж чисельність ентомофагів досягне ефективно обмежуючого рівня. Виключенням є лише хаоборида, зокрема *M. martini*, личинки якого у весняно-літній період активно виїдають личинок комарів *Ochlerotatus* у тимчасових водоймах.

Висновки. 1. Якісний і кількісний склад гідробіонтів, біотопічно асоційованих з преімагінальними фазами кровосисних комарів (харчові конкуренти, паразити та хижаки) і, як наслідок, щільність преімагінальних стадій Culicidae безпосередньо пов'язані з гідрологічним режимом конкретних водойм. Найбільша продуктивність комарів притаманна тимчасовим водоймам. 2. В умовах урбанізованого ландшафту максимального ефекту на сучасному етапі боротьби з преімагінальними фазами комарів можна досягти за рахунок: а) різкого обмеження

кількості тимчасових та боніфікації постійних водойм; б) інтродукції (колонізації) в постійні водойми личинкоїдних риб – карася сріблястого та триголкової колюшки.

Список використаної літератури. 1. Дубровский Ю.В. О поедании личинок кровососущих комаров (сем. Culicidae) колюшкой трехиглой *Gasterosteus aculeatus* L. //Патология членистоногих и биологические средства борьбы с вредными организмами (Тезисы докл. Первой Респ. научн. конф. (г. Канев, 7-10.1X.82 г.). – К., 1982. – С. 74-75. 2. Кілючицька Н.П. Короткий визначник кровосисних комарів фауни України. – К.: Геопринт, 2008. – 90 с. 3. Кілючицький П.Я. Мікроспоридії кровосисних комарів. – К.: Геопринт, 2002. – 226 с. 4. Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР (планктон и бентос). Ред.: Л.А.Кутикова, Я.И. Старобогатов. – Л. Гидрометеиздат, 1977. – 511 с. 5. Хейсин Е.М. Краткий определитель пресноводной фауны. Госучпедгиз МП РСФСР

Ленинградское отделение. – Л.-М., 1951. – 159 с. 6. Шеремет В.П. К изучению роли биоценологических факторов в ограничении численности популяций кровососущих комаров //Патология членистоногих и биологические средства борьбы с вредными организмами (Тезисы докл. Первой Киевской гор. конф.). – К., 1974. – С. 184-187. 7. Jenkins D.W. Pathogenes, parasites and predators of medically important arthropods // Bull. World Health Organisation, Supplement. – 1964, 30. – 154 p.

Автор висловлює щирю подяку акад. В.І. Монченко (Інститут зоології ім. І.І. Шмальгаузена НАН України) за консультації та допомогу у визначенні веслоногих ракоподібних та проф. О.О. Протасову (Інститут гідробіології НАН України) за консультації та допомогу у визначенні гіллястовусих раків та личинок некровосисних двокрилих.

Надійшла до редколегії 26.11.12

УДК 598.2

А. Маркова, студ., А. Турчик, асп., Л. Горобець, канд. біол. наук

ОСОБЛИВОСТІ ПОВЕДІНКИ ЛІСОВИХ ПТАХІВ НА МІСЦЯХ ВОДОПОЮ

*Дослідження проведено в дендропарку НАНУ "Олександрія" м. Біла Церква. Встановлено, що місце водопою для більшості птахів лісових та паркових екосистем є важливим комплексним екологічним фактором. На водопой зафіксовано 38 видів птахів, більшість з яких горобцеподібні (32 види). Приліт птахів на місця водопою має два піки добової активності. В усі години дня переважає купання та/або пиття води. Найбільш агресивна поведінка на місцях водопою по відношенню до інших птахів характерна для співочого дрозда (*Turdus philomelos*) та зяблика (*Fringilla coelebs*). Особливе значення місця водопою мають для зерноїдних видів птахів та, меншою мірою, для комахоїдних.*

Ключові слова: види птахів, паркові екосистеми, поведінка птахів.

*Исследование проведено в дендропарке НАНУ "Александрия" Белая Церковь. Установлено, что место водопою для большинства птиц лесных и парковых экосистем является важным комплексным экологическим фактором. На водопое зафиксировано 38 видов птиц, большинство из которых воробьинообразных (32 вида). Прилет птиц на места водопою имеет два пика суточной активности. Во все часы дня преобладают купания и/или питья воды. Наиболее агрессивное поведение на местах водопою по отношению к другим птицам характерно для певчего дрозда (*Turdus philomelos*) и зяблика (*Fringilla coelebs*). Особое значение места водопою имеют для зерноядных видов птиц и, в меньшей степени, для насекомоядных.*

Ключевые слова: виды птиц, парковые экосистемы, поведение птиц.

*Research was conducted in the park NASU "Olexandria" Bila Tserkva. Found that watering place for most birds of forest and park ecosystems is an important environmental factor complex. At the watering place was recorded 38 species of birds, most of which passerine (32 species). Arrival birds on watering place has two peaks of daily activity. At all hours of the day prevails bathing and/or drinking water. Song thrush (*Turdus philomelos*) and chaffinch (*Fringilla coelebs*) were the most aggressive species. Of particular importance is watering place with granivorous bird species and, to a lesser extent, for insectivorous.*

Keywords: types birds, park ecosystems, behavior birds.

Вступ. Вода є важливим та невід'ємним компонентом всього живого. Здатність організму поповнювати власні втрати води є одним із найбільш важливих факторів, що впливає на його життєздатність. Навіть відносно нетривала нестача води може призвести до серйозних наслідків. Наприклад, 36-ти годинна перерва в поповненні організму водою вже здатна викликати цілий ряд негативних та незворотних змін в його метаболізмі [8]. На рівні популяцій нестача достатньої кількості води може спричинити довготривалі перерви в розмноженні, що пов'язано з нездатністю гонад нормально функціонувати в період відсутності води. Відмічено це для видів птахів, що живуть в посушливих широтах, на відміну від птахів вологих регіонів, у яких подібне пригнічення не спостерігається [1]. Звичайно, поповнення запасів води потребують не лише птахи пустель, але й лісові види, більшість з яких постійно відвідують місця водопою [10]. Водний обмін також пов'язаний із підтриманням теплового балансу. Надмірному підвищенню температури організм птаха протиставляє випаровування води. У птахів випаровування через шкіру незначне, крім того густий пір'євий покрив утворює щільний бар'єр, який запобігає втраті води [2]. Терморегуляторне випаровування відбувається переважно через дихальні шляхи. При зменшенні розмірів тіла помітно збільшується відносно випаровування [3]. При підвищенні температури повітря до рівня температури тіла птахів – випаровування стає основним регуляторним механізмом, проте в умовах дендропарку "Олександрія", де проводились дослідження, мікрокліматичні умови наближені до згаданих (температура повітря близько 39° С) виникають дуже рідко і тільки на відкритих ділянках, а

не в лісових екосистемах. Незважаючи на тенденцію вироблення фізіологічних та етологічних пристосувань для економних витрат води, птахи регулярно відвідують місця водопою (переважно це стосується зерноїдних видів). Завдяки питтю птахи накопичують воду в м'язах та внутрішніх органах, а при травленні здатні більш інтенсивно всмоктувати її з неперетравлених решток. Щодо поведінкових пристосувань птахів та, в першу чергу, слід відмітити розподіл добової активності. Її розподіл та зв'язок із регуляцією водного обміну у птахів найкраще вивчений на прикладі аридних біотопів, оскільки там найбільш чітко помітна лімітуюча дія фактору дефіциту води. Добова активність птахів в зонах із посушливим кліматом зорієнтована, в першу чергу, на економію води, а вже потім на задоволення інших потреб (можливість добути корм, зменшення ймовірності зустрічі із конкурентом тощо) [4]. На основі досліджень в Каракумах [1] було виявлено чітку кореляційну залежність добової активності прильоту на водопій від середньодобової та максимальної добової температури. З підвищенням середньодобової температури відмічається збільшення частоти прильоту на водопій. Також було виявлено залежність даного аспекту добової активності від хмарності. Підвищення хмарності зменшувало частоту використання водопою.

Історія досліджень. Добова активність прильоту на водопій птахів лісових екосистем є маловивченою. Частково цим займався Ф.І. Страутман, який в 1957 року спостерігав за птахами дубово-букових лісів гірської частини Криму [10]. Важливість цих досліджень для науки є незаперечною, проте слід вказати на те, що питання значення водопою для птахів не були основ-

ною тематикою роботи відомого орнітолога. Тому ці спостереження він проводив лише протягом трьох днів. Також слід звернути увагу на такий аспект питання, як відмінність періоду дослідження Страутмана з нашим: спостереження були проведені ним ранньої осені, а наші – під час гніздового сезону. Проте, незважаючи на те, що з моменту публікації його статті пройшло понад 50 років, після чого подібні дослідження майже не проводились, наукова цінність її зберігається і до сьогодні [10]. Щодо птахів лісових екосистем, то є лише одна публікація, присвячена дослідженням водопійного режиму птахів. В 1979 р. такі дослідження проводились науковцями Київського національного університету імені Тараса Шевченка в грабовій діброві та садибі Канівського природного заповідника [9].

Метою дослідження є встановлення основних поведінкових реакцій лісових та паркових птахів на місцях водопою по відношенню до води, як життєво необхідно-го ресурсу та "особистого простору".

Об'єкт дослідження: водопій, як комплексний екологічний фактор для птахів лісових екосистем.

Предмет дослідження: приліт та поведінкові характеристики птахів на місці водопою.

Матеріали і методи: Місцем проведення дослідження був водопій в дендрологічному парку "Олександрія" НАН України у м. Біла Церква. Місце було вибрано з урахуванням низької ймовірності зустрічі людей. Водопій являє собою джерельце, оточене бетонними укріпленнями. Глибина – до 20 см. Загальна площа – 1,5 м². Джерело захарчене, заросле чагарником та знаходиться в глибині невеликого лісового масиву. Все вищезазначене, а також постійна зімкнутість крон дерев, спричинює відносно сталу температуру повітря, що коливається тут в межах 20-25 °С. Спостереження проводилися з 21 червня по 28 червня з 4-ї години ранку до 22 години вечора. Загальна тривалість спостережень становила 54 години. Записували загальну кількість птахів, які прилетіли на місце водопою, їх вид, фіксували точний час появи птаха, його поведінку. Під час спостережень відмічалася розмежування за статтю (у видів, для яких наявний статевий диморфізм) та віком.

Щоб максимально зменшити фактор турбування дослідником птахів, було вжито наступні заходи: спостереження проводили на відстані 20 метрів за допомогою 8X бінокля; спостерігач був одягнений у маскуючий одяг; для місця розташування спостерігача було вибрано природне заглиблення на поверхні ґрунту, додатково замасковане невеликим кущем. Були використані

хімічні засоби проти комарів та кліщів, застосування яких ніяким чином не відображається на результатах спостережень, оскільки досліджувані види птахів є мікросматиками. Згідно загальноприйнятих етологічних методик [6, 7] для зручності спостережень пропонується розділити можливі варіанти поведінкових актів птахів на водопої: 1) Пиття води; 2) Споживання кормових об'єктів; 3) Купання; 4) Інше.

До категорії 4 відносимо будь-які інші дії, окрім зазначених в пунктах 1, 2 та 3. Хоч це завідомо зменшує кількість отриманої під час досліджень інформації, проте певною мірою захищає від суб'єктивності висновків. Оскільки, наприклад, при такому поведінковому акті, як спокійне стояння птаха на поверхні ґрунту, дослідник не може встановити причин цього акту: відпочинок, обстеження навколишньої місцевості на предмет небезпеки, пошук корму тощо. Тоді як причини таких поведінкових актів як пиття води, споживання корму та купання цілком зрозумілі досліднику. Для дослідження наявності масового (групового) прильоту птахів на місце водопою, при вивченні добової активності, фіксувалися кількість птахів та їх вид кожної хвилини, що прилітали та перебували на водопої під час досліджень. Отримані дані були систематизовані та оброблені у програмі Excel за стандартними математичними методиками. У роботі використано назви птахів згідно анотованого списку українських наукових назв птахів фауни України [11].

Результати та їх обговорення. За весь час спостережень водопій відвідало 38 видів птахів, переважна більшість з яких – горобцеподібні Passeriformes (32 види). Інші 6 видів представляють ряди голубоподібні Columbiformes (1 вид) та дятлоподібні Piciformes (5 видів). **Добова активність.** На основі досліджень встановлено, що птахи лісових екосистем парку "Олександрія" відвідують водопій з 4-ї години ранку до 20-ї години вечора включно, тобто, хоч переважно птахи відвідують місце водопою протягом світлового дня, проте нерідко прилітають туди і під час ранкових чи вечірніх сутінок. Приліт на водопій після 22-ї години та до 5-ї години відмічався вкрай рідко. Птахи часто прилітали на місце водопою навіть під час невеликого дощу. Проте більше матеріалу було зібрано стосовно появи на водопої птахів за умов відсутності опадів, що дає змогу прослідкувати динаміку добової активності прильоту на водопій. Добова активність прильоту птахів на місце водопою має два піки: ранковий (з 7-ї до 10-ї години ранку) та денний (з 12-ї до 15-ї). Після денного піку слідує поступовий спад активності, який починається з 16-ї години (рис. 1).

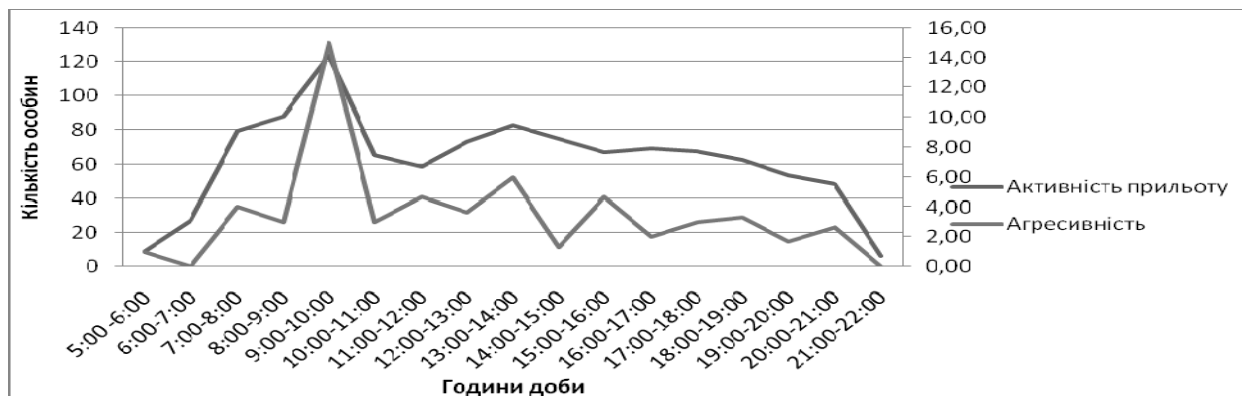


Рис. 1. Графік зміни активності прильоту птахів на місце водопою протягом доби

Таке коливання активності прильоту на водопій пояснюємо нерівномірними потребами у воді протягом дня. Загальновідомо, що при однаковій температурі але в різні години доби втрати тепла різні. В птахів основ-

ним механізмом фізичної терморегуляції є випаровування, оскільки радіація та конвекція ускладнена наявністю термоізолюючого пір'яного покриву. Також це пов'язано з тим, що у першій половині дня птахи виявля-

ють більшу обережність порівняно з вечірніми годинами. Отже нерівномірні витрати тепла протягом доби впливають на втрати води. Динаміку цього процесу у птахів можна описати наступним чином: 22-5 години – птахи сплять. Внаслідок дихання організм втрачає воду. Цей процес повільний, але оскільки триває близько шести годин, втрати води є суттєвими. 5-9 годин – птахи прокидаються і починають активно відвідувати місця водопою, щоб поповнити втрати організмом води протягом ночі. 9-10 годин – ранковий пік кормової активності. Внаслідок цього організм виробляє багато тепла, надлишок якого виділяється шляхом випаровування води дихальними шляхами. Птахи частіше прилітають на місця водопою. 10-13 годин – Сонце знаходиться в зеніті і кормова активність знижується. Зменшуються виділення тепла організмом і тому зменшується активність прильоту на водопій. 13-17 годин – Сонце тривалий час знаходиться високо над горизонтом, що спричиняє збільшення надходження тепла в організм із зовні. Для боротьби з перенагріванням птахи виділяють надлишок тепла з організму внаслідок випаровування води. Зростає активність прильоту на місця водопою. 17-20 годин – Сонце знаходиться не високо над

лінією горизонту, надходження тепла ззовні зменшується. Обсяг випаровування води з метою охолодження значно менший. Активність прильоту на місця водопою поступово зменшується.

Така послідовність динаміки активності прильоту на водопій є умовною і при різних погодних умовах може мати певні відмінності.

Поведінкові особливості птахів на місцях водопою. Раніше було відомо, що на місця водопою птахи прилітають з метою пиття води та, значно рідше, для того щоб покупатись. Дані, отримані нашими дослідженнями дають нам багато нових та невивчених аспектів даної тематики у лісових екосистемах. Згідно цих даних часто були зафіксовані випадки прильоту з метою пошуку корму, виявлено що, першочергова потреба птахів у місцях водопою проявляється в актах купання та пиття води, також зафіксовані випадки перебування птахами на водопой з метою пошуку матеріалу для гнізд та приліт для відпочинку. Систематизувавши та проаналізувавши отримані дані, була побудована гістограма (рис. 2.), що відображає динаміку зміни зайнятості птахів на водопой протягом світлового періоду доби. Як видно з гістограми, в усі години дня переважає купання та/або пиття води.

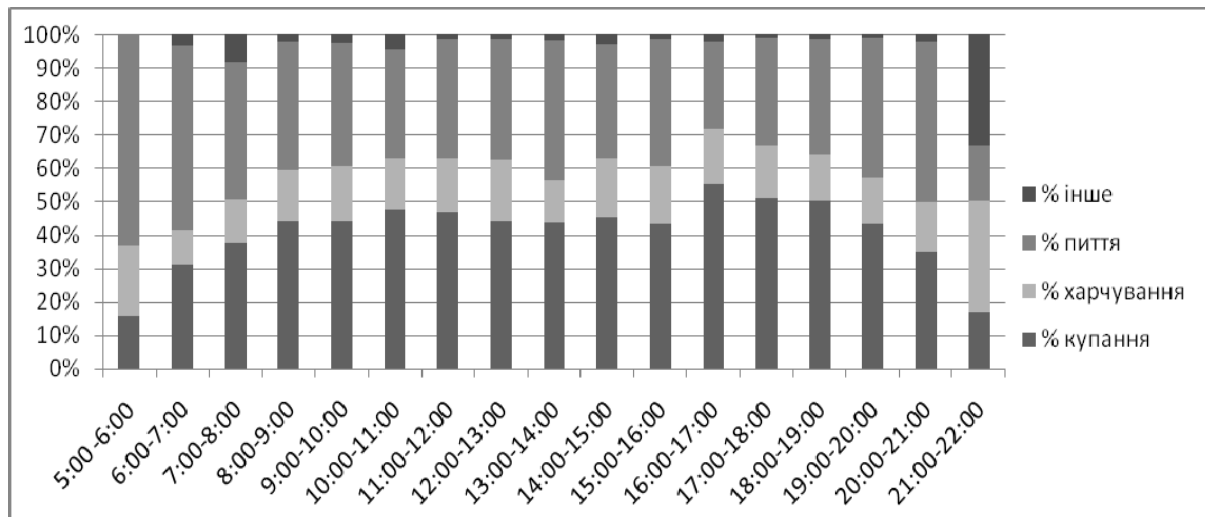


Рис. 2. Динаміка зміни зайнятості птахів на водопой протягом світлового періоду доби

Агресивність птахів по відношенню один до одного. Встановлено наявність міжвидової та внутрішньовидової агресивності (табл. 1).

Таблиця 1. Наявність/відсутність агресивності птахів на водопой

№	Вид-жертва	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	<i>Columba palumbus</i>												X	X							
2	<i>Jynx torquilla</i>																				
3	<i>Picus canus</i>																				
4	<i>Dendrocopos major</i>																				
5	<i>Dendrocopos syriacus</i>												X								
6	<i>Dendrocopos medius</i>												X								
7	<i>Alauda arvensis</i>																				
8	<i>Motacilla alba</i>																				
9	<i>Oriolus oriolus</i>																				
10	<i>Garrulus glandarius</i>																				
11	<i>Acrocephalus arundinaceus</i>												X				X				
12	<i>Hippolais icterina</i>		X		X	X						X		X							
13	<i>Sylvia atricapilla</i>	X											X	2					1		
14	<i>Sylvia borin</i>															X					
15	<i>Sylvia communis</i>														X						
16	<i>Phylloscopus collybita</i>											X					1				X
17	<i>Phylloscopus sibilatrix</i>																	1			

Продовження табл. 1

	Вид-жертва	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
18	<i>Muscicapa striata</i>																				
19	<i>Ficedula parva</i>																				
20	<i>Ficedula albicollis</i>																X				
21	<i>Ficedula hypoleuca</i>																				
22	<i>Erithacus rubecula</i>		X									X		X							X
23	<i>Luscinia luscinia</i>																				
24	<i>Turdus philomelos</i>												X	1			X		X		1
25	<i>Turdus merula</i>												X								X
26	<i>Parus major</i>			X	X								X	1				1			X
27	<i>Parus caeruleus</i>			X									X						X		
28	<i>Parus palustris</i>												X								
29	<i>Sitta europaea</i>																				
30	<i>Certhia familiaris</i>			X		X															
31	<i>Passer domesticus</i>													X							
32	<i>Fringilla coelebs</i>		X	X	X													X	X		1
33	<i>Carduelis chloris</i>																				
34	<i>Carduelis carduelis</i>													1							
35	<i>Serinus serinus</i>											X									
36	<i>Carduelis spinus</i>																	X			
37	<i>Cocc. coccothraustes</i>				X									4					1		
38	<i>Emberiza citrinella</i>																				

Таблиця 1. Наявність/відсутність агресивності птахів на водопої (продовження)

	Вид-жертва	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
№	Вид-агресор																		
1	<i>Columba palumbus</i>		X										X						
2	<i>Jynx torquilla</i>					X	X				X		X						
3	<i>Picus canus</i>					X							X						
4	<i>Dendrocopos major</i>					X							X					X	
5	<i>Dendrocopos syriacus</i>										1								
6	<i>Dendrocopos medius</i>																		
7	<i>Alauda arvensis</i>																		
8	<i>Motacilla alba</i>																		
9	<i>Oriolus oriolus</i>																		
10	<i>Garrulus glandarius</i>																		
11	<i>Acrocephalus arundinaceus</i>		X																
12	<i>Hippolais icterina</i>				X	X	X	X								X			
13	<i>Sylvia atricapilla</i>		X		X		X	1				X	2		X			X	
14	<i>Sylvia borin</i>																X		
15	<i>Sylvia communis</i>																		
16	<i>Phylloscopus collybita</i>		X		X		X						X						
17	<i>Phylloscopus sibilatrix</i>		X				X						X				X		
18	<i>Muscicapa striata</i>				X			X		X		X	X						
19	<i>Ficedula parva</i>																		
20	<i>Ficedula albicollis</i>		X		X	X	1											X	
21	<i>Ficedula hypoleuca</i>				X														
22	<i>Erithacus rubecula</i>		5		X								X		X				
23	<i>Luscinia luscinia</i>													1					
24	<i>Turdus philomelos</i>	X	1	1	8	X	2				X	X	1		4			1	
25	<i>Turdus merula</i>				X		X					X							
26	<i>Parus major</i>				1		17	1	X	X	X		3					X	
27	<i>Parus caeruleus</i>		1				2	3			X						X		
28	<i>Parus palustris</i>				X		X	X	X										
29	<i>Sitta europaea</i>					X	X						X			X			
30	<i>Certhia familiaris</i>					X	X						X					X	
31	<i>Passer domesticus</i>				X			1			X	4							
32	<i>Fringilla coelebs</i>		1		1		9	2	1		X	X	3		4			2	
33	<i>Carduelis chloris</i>						1						2						
34	<i>Carduelis carduelis</i>		X				2	X							2	2		X	
35	<i>Serinus serinus</i>						1									X			X
36	<i>Carduelis spinus</i>							X											X
37	<i>Cocc. coccothraustes</i>				1		4				1		3	2	1			6	
38	<i>Emberiza citrinella</i>															X	X		

Умовні позначки до таблиці: X – відсутня реакція агресії при наявності обох видів одночасно на водопої; 1.17 – присутня реакція агресії при наявності обох видів одночасно на водопої (зафіксовано кількість випадків агресивної поведінки); пуста клітинка – не зафіксована агресивна реакція виду на присутність іншого, у зв'язку з неперебуванням видів одночасно на місці водопою

Найбільш агресивна поведінка на місцях водопою по відношенню до інших птахів характерна для співочого дрозда (*Turdus philomelos*) та зяблика (*Fringilla coelebs*).

Зяблик проявляє агресивність по відношенню до 9 видів (у тому числі до свого виду), виявлена підвищена агресивність до синиці великої (*Parus major*) та щиглика

(*Carduelis carduelis*); співочий дрізд проявляє агресивність до 9 видів (у тому числі до свого виду), виявлена підвищена агресивність до щиглика. З рис. 1 видно, що агресивність збільшується при збільшенні кількості особин на місці водопою. Виходячи з того, що піки агресивності припадають на період переходу птахів до фази підвищеного пошуку корму, можливо зробити висновок про підвищену конкуренцію за обмежений ресурс.

Наявність колективного прильоту птахів на місця водопою. Проаналізувавши данні погодинного прильоту птахів на водопій, була встановлена закономірність колективного прильоту. Встановлено, що птахи оминають місця водопою, якщо на його території відсутні інші види птахів. Навпаки, при наявності хоча б однієї особини на водопой, починається масовий приліт птахів одного або різних видів. Таким чином ми спостерігаємо наявність масового (групового) прильоту на водопій, коли поява однієї особини передує або (можливо) стимулює масове відвідування водопою іншими птахами. Птахи пересуваються лісовими біоценозами зграйками, що складаються з особин різних видів. Частіше за інших об'єднується у зграйки птахи родини синицеві (*Paridae*).

Купання птахів виконує не лише гігієнічну функцію, а й водозапальну. Можливо, що в першу чергу даний поведінковий акт потрібний саме для регуляції водного обміну, оскільки мілководні водойми багаті на різноманітні види безхребетних та бактерій, в тому числі і паразитичних, тому гігієнічне значення купання у птахів є суперечливим. Окрім того, основними ектопаразитами птахів є кліщі, проти яких купання зовсім не діє. Будова пір'яного покриву на черві птахів така, що після купання вони можуть зібрати до 20 мг води на 1 мг сухої ваги пір'я [5].

Висновки. Проаналізувавши отримані дані, можна зробити висновок, що місця водопою для більшості видів птахів є важливим комплексним екологічним фактором. Їх втрата буде мати негативні наслідки для орнітоценозу в цілому, що буде мати відображення на стабільності самих біогеоценозів. Особливе значення місця водопою мають для зерноїдних видів птахів та, меншою мірою, для комахоїдних. Хижі птахи не використовують водопій як джерело отримання організмом води і, як

наслідок, не потребують наявності відкритих водойм в районі їх гніздування. Але до їх раціону часто входять зерноїдні види птахів, тому не слід нехтувати опосередкованим впливом місць водопою на стабільність популяцій хижаків. Слід зазначити, що питання значення місць водопою для птахів вже півстоліття успішно вивчається на прикладі аридних біотопів, проте стосовно лісових екосистем є лише дві публікації, датовані 1958 та 1979 роками. Отже, більш ретельне вивчення цього питання на прикладі саме лісових птахів є актуальним на сьогоднішній день, а висновки – важливими для сучасної екології та орнітології. Результати роботи підтверджують важливу роль джерел води для птахів лісових та паркових екосистем. Отримані дані можуть допомогти кращому розумінню потреб птахів лісових біоценозів. У подальшому ці знання можна успішно застосовувати у заповідній справі та охороні природи, наприклад, для підтримки популяцій птахів на стабільному рівні та загалом для приваблення птахів у ліси, парки та штучні насадження з недостатньою кількістю джерел води.

Список використаної літератури. 1. Аманова М.А. Эколого-морфологические и физиологические адаптации водного обмена птиц Каракумов. – Ашхабад: Ылым, 1982. – 200 с. 2. Добрынина И.Н. Изменение полового и возрастного состава и некоторых признаков пола и возраста зябликов в течение осеннего пролета // 5-я Прибалт. орнитол. конф.: Тез. докл., Тарту, 1963. – С. 55–57. 3. Коваль Н.Ф. Птицы в экосистемах лесостепной полосы европейской части СССР. – Киев: УСХА, 1995. – 188 с. 4. Ларионов В.Ф. К вопросу об определении численного отношения полов у птиц в природе // Труды лаборатории экспериментальной биологии Московского зоопарка. – 1927. – Т. 2. – С. 119–136. 5. Левин А.С. Губин Б.М. Биология птиц интразонального леса: (на примере воробьиных в пойме р. Урал) / За ред. Левина А.С. – Алма-Ата: Наука, 1962. – 248 с. 6. Лэк Д. Численность животных и ее регуляция в природе. – Москва: Изд-во иностран. лит-ры. – 404 с. 7. Мальчевский А.С. Гнездовая жизнь певчих птиц. – Ленинград: Лен. ун-т, 1959. – 282 с. 8. Наумов Н.П. Структура популяций и динамика численности наземных позвоночных // Зоологический журнал. – 1967. – Т. 46. – № 10. – С. 1470–1486. 9. Серебряков В.В. Суточная активность птиц Каневского заповедника на водопое в гнездовой период // Экология гнездования птиц и методы ее изучения: Тез. всесоюз. конф. молод. уч., Самарканд, 1979. – С. 190–192. 10. Страутман Ф.И. О посещении водоемов птицами в горах Крыма // Орнитология. – 1958. – Вып. 197 – С. 81–85. 11. Фесенко Г.В., Бокотей А.А. Анотований список українських наукових назв птахів фауни України (друге видання). – Київ-Львів, 2002. – 44 с.

Надійшла до редколегії 23.10.12

УДК . 612.398.192:542.49.612.112

Н. Салига, канд. біол. наук

КАТАЛАЗНА ТА СУПЕРОКСИДИСМУТАЗНА АКТИВНІСТЬ В ОКРЕМИХ ОРГАНАХ ЩУРІВ ЗА ВПЛИВУ L-ГЛУТАМІНОВОЇ КИСЛОТИ

Досліджували вплив різних доз L-глутамінової кислоти (285мг/кг – перша дослідна група, 715мг/кг – друга дослідна група) на активність окремих ензимів антиоксидантного захисту (каталази та супероксиддисмутазу) у тканинах щурів. Встановлено, що застосування L-глутамінової кислоти сприяє зростанню супероксиддисмутазної активності в тканинах печінки та нирок щурів другої дослідної групи та зростанню каталазної активності у тканинах селезінки та м'язів тварин першої дослідної групи і у тканинах нирок та м'язів тварин другої дослідної групи порівняно до контролю.

Ключові слова: каталаза, супероксиддисмутаза, антиоксидантна система, L-глутамінова кислота.

Исследовали влияние разных доз L-глутаминовой кислоты (285мг/кг – первая исследовательская группа, 715мг/кг – вторая исследовательская группа) на активность отдельных ферментов антиоксидантной защиты (каталазы и супероксиддисмутазы) в тканях крыс. Установлено, что применение L-глутаминовой кислоты способствует росту супероксиддисмутазной активности в тканях печени и почек крыс второй опытной группы и росту каталазной активности в тканях селезенки и мышц животных первой опытной группы и в тканях почек и мышц животных второй опытной группы по сравнению с контролем.

Ключевые слова: каталаза, супероксиддисмутаза, антиоксидантная система, L-глутаминовая кислота.

The effect of application of glutamic acid in different doses (285 mg/kg – the first experimental group, 715 mg/kg – the second experimental group) on activity of some antioxidant enzymes (catalase and superoxide dismutase) in the tissue of rats was investigated. It was established that the use of L-glutamic acid contributes to increase of the SOD activity in liver and kidney tissues of rats of the second experimental group and to increase of the catalase activity in spleen and muscle tissues of animals first experimental group and also in kidney and muscle tissues of animals second experimental group compared to control.

Keywords: catalase, superoxide dismutase activity, antioxidant system, L-glutamic acid.

Вступ. Антиоксидантна система захисту (АОЗ) належить до ключових регуляторних систем організму, регулюючи рівень вільних радикалів та пероксидів, що утворюються в біохімічних реакціях за участю активних форм Оксигену. Вона запобігає розвитку реакцій перексидного окислення ліпідів (ПОЛ) [13]. Основний меха-

нізм контролю цих реакцій пов'язаний з ланцюгом зворотних окисно-відновних реакцій іонів металів, глутатіону, аскорбату, токоферолу та інших речовин [11]. Відомо, що глутамінова кислота (L-Glu) має виражену антиоксидантну та мембраностабілізуючу дію завдяки пригніченню ПОЛ [9]. L-Glu слід розглядати як регуля-

торну молекулу широкого спектру дії. Ця амінокислота є джерелом α -кетоглутарату – компоненту циклу Кребса. Ензими, залучені у метаболізм глутамінової кислоти займають центральне місце у амінокислотному обміні. L-Glu є донором аміногруп у реакціях трансамінування, які поповнюють пул амінокислот для забезпечення біосинтетичних потреб організму, а також є з'єднувальною ланкою з енергетичним метаболізмом клітин [1,8]. Крім того, глутамінова кислота використовується як сировина для антиоксиданту – глутатіону (який синтезується з L-Glu, цистеїну і гліцину) [5].

Організм використовує протягом дня величезну кількість глутамінової кислоти. Особливо багато її потрібно для підтримки функціонування імунної системи, нирок, підшлункової залози, жовчного міхура і печінки [10]. При пероральному застосуванні глутамінова кислота добре всмоктується. Швидко елімінується з крові, накопичуючись переважно в м'язовій і нервовій тканинах, в печінці і нирках. Метаболічні процеси, що відбуваються в організмі тварин та людини при стресах і захворюваннях призводять до використання великої кількості L-Glu. Дослідження обміну глутамінової кислоти є важливими для з'ясування її ролі у метаболічних процесах, представляє значний інтерес для вирішення багатьох фундаментальних та практичних проблем, пов'язаних з білковим обміном [7, 12].

У зв'язку з вищесказаним, актуальним є з'ясування впливу L-глутамінової кислоти на активність окремих ферментів антиоксидантного захисту.

Метою роботи було визначити супероксиддисмутазну активність (СОД) та каталазну активність в тканинах щурів за умов введення L-глутамінової кислоти.

Матеріали і методи. Дослід проводили на білих щурах-самцях лінії Вістар масою 200-220 г, які були розділені на 3 групи по 10 тварин у групі (дві дослідні та одна контрольна). Тривалість дослідного періоду 1 місяць. Тваринам дослідних груп вводився водний розчин L-глутамінової кислоти в дозі 285 мг/кг (Д1) та 715 мг/кг (Д2) відповідно (1 раз на добу, перорально). Застосовані дози визначали з розрахунку кількості сирого протеїну, який тварина отримувала з кормом. Таким чином, тварини першої дослідної групи отримували додатково 10% глутамінової кислоти від вмісту білка в кормі, тварини другої дослідної групи отримували додатково 25% глутамінової кислоти від вмісту білка в кормі. Щурам контрольної групи упродовж 30-ти днів перорально вводили відповідну кількість дистильованої води. Тва-

ринам згодовували стандартний комбікорм для лабораторних щурів. Після закінчення дослідів тварин всіх груп за анестезії ефіром декапітували. Для аналізу відбирали зразки тканин печінки, головного мозку, серця, нирок, легень, селезінки та скелетних м'язів. Під час проведення досліджень на тваринах дотримувалися принципів біоетики, законодавчих норм та вимог згідно з положенням "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей" (Страсбург, 1986) і "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Для аналізу відбирали зразки тканин печінки, головного мозку, серця, нирок, легень, селезінки та скелетних м'язів, у яких визначали супероксиддисмутазну активність (КФ 1.1.15.1.) за методом [6] та каталазну активність (КФ 1.11.1.6) за методом [3]. Одержані цифрові дані обробляли статистично. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Ключовими ензимами антиоксидантного захисту є каталаза та СОД. Злагодженість у роботі цих двох ферментів забезпечують стаціонарний рівень концентрації вільних радикалів. Значну роль в процесах інгібування вільнорадикального окислення відіграє фермент супероксиддисмутаза, оскільки вона забезпечує ферментативну дисмутацію супероксидного радикала, що є попередником гідроксидного радикала, токсичного для клітини [2]. Він взаємодіє з молекулами ліпопротеїнів, викликає розрив спіралей ДНК, окислення тіолових груп, ініціює пероксидне окислення ліпідів. Реакції дисмутації супероксид аніон – радикала і розкладання пероксиду Гідрогену екзотермічні, а каталізують ці реакції СОД і каталаза, які не потребують кофакторів, що робить їх активність незалежною від функціонування інших клітинних структур. Надлишкове накопичення в клітинах супероксидного аніон-радикалу або пероксиду Гідрогену супроводжується депресією ділянок геному, що відповідають за активність внутрішньоклітинних ферментативних антиоксидантних систем. Проте, супероксиддисмутазна активність після застосування L-Glu (рис. 1) у наших дослідженнях була достовірно вища лише в тканинах нирок на 16,7% та печінки на 29,1% тварин другої дослідної групи порівняно до щурів контрольної групи та приблизно однакова у легенях, мозку, серці та м'язах.

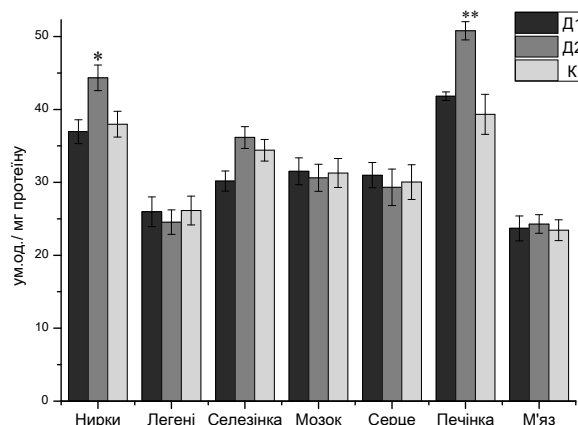


Рис.1. Супероксиддисмутазна активність у тканинах щурів за дії глутамінової кислоти

Примітка. У цій і наступній таблицях: * – вірогідність відмінностей у значеннях показників між контрольною та дослідними групами тварин (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$)

Можна припустити, що збільшення супероксиддисмутази активності пов'язане зі зростанням вмісту відновленого глутатіону у тканинах печінки щурів, яке відбувалося у відповідь на введення L-глутамінової кислоти. Як відомо, із трьох ліній захисту від активних кисневих радикалів, у яких беруть участь такі ензими, як СОД, каталаза, глутатіонпероксидаза і глутатіонтрансфераза,

глутатіон задіяний у всіх трьох, і, відповідно, вносить основний вклад у функціонування антиоксидантної системи. У печінці щура за фізіологічних концентрацій O_2 1-4% від споживаної кількості перетворюється на активні форми кисню (АФК) внаслідок вивільнення електронів із мітохондрій [13]. Взаємодія АФК із білками може призвести до модифікації залишків амінокислот [11].

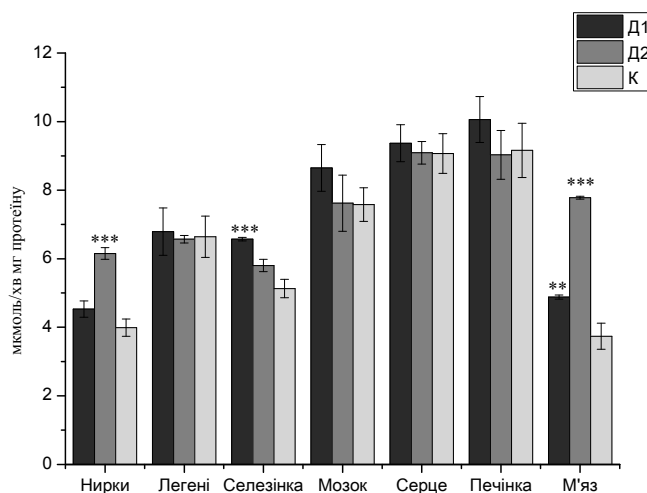


Рис.2. Каталазна активність у тканинах щурів за дії глутамінової кислоти

Супероксиддисмутаза завжди працює в парі з каталазою. У тканинах печінки, нирок та селезінки дослідних груп порівняно зі щурами контрольної групи виявлено значно вищу каталазну активність (рис. 2), яка каталізує реакцію знешкодження пероксиду Гідрогену, що утворюється в результаті реакції дисмутації супероксидного радикала. Цей фермент локалізований переважно в пероксисомах клітин [4]. Велика молекулярна маса каталази перешкоджає її проникненню через клітинну мембрану. Поряд з розкладанням пероксиду Гідрогену і тим самим захистом клітини від її токсичного впливу каталаза каталізує цілий ряд метаболічно важливих реакцій. Слід зазначити вірогідне зростання каталазної активності у тканинах м'язів щурів двох дослідних груп відповідно на 30,5% та 108% у порівнянні до контролю, але більшими ці різниці були у тварин другої дослідної групи, яким вводили водний розчин L-Glu у дозі 715 мг/кг. Спостерігалось вірогідне зростання цього показника і у тканинах нирок (друга дослідна група) на 54,1% та у тканинах селезінки (перша дослідна група) на 28% порівняно до контролю. У печінці, як центральному органі метаболізму зосереджено до 60% загальної активності каталази; високий рівень ферменту також зазначається в нирках, лейкоцитах і еритроцитах. У тварин першої дослідної групи спостерігалось незначне зростання каталазної активності в тканинах мозку та печінки, але ці дані не були вірогідними.

Як правило, кількість каталази в клітині достатня, щоб не дозволити невеликій ендогенно генеруючій кількості H_2O_2 проявити потенційну токсичність. Однак, при стресах, ряді патофізіологічних процесів, а також при додаванні екзогенного пероксиду Гідрогену утворюються короткоживучі радикали, які пошкоджують ДНК і викликають мутації.

Слід відмітити, що каталазна та супероксиддисмутазна активність у наших дослідженнях корелюють між

собою. Це може бути пов'язано з переключенням потоку електронів з одного ланцюга транспорту на інший. В цих умовах СОД і каталаза діють як ланки однієї системи утилізації Оксигену, розміщені в різних ділянках клітини.

Висновки. Отримані результати проведених досліджень показали, що застосування L-глутамінової кислоти сприяє зростанню супероксиддисмутази активності в тканинах печінки та нирок щурів другої дослідної групи та зростанню каталазної активності у тканинах селезінки та м'язів тварин першої дослідної групи і у тканинах нирок та м'язів тварин другої дослідної групи порівняно до контролю.

Список використаної літератури. 1. Галимская Е.В., Демидова М.А. Обзор препаратов нейроаминокислот // Врач и аспирант. – 2009. – №6(33). – С. 457-461. 2. Задорина О. В. Ферменти антиоксидантної системи печінки щурів за умов отруєння хлоридом кадмію або 1,2-дихлоретаном // Современные проблемы токсикологии. – 2008. – № 3. – С.68-72. 3. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. Методы определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18. 4. Мирошниченко О. С. Биогенез, физиологическая роль и свойства каталазы // Биополимеры и клетка. – 1992. – Т. 8. – №6. – С. 3-25. 5. Руденко В.В., Голобородько А.В., Редько А.В., Давыдов В.В. Особенности изменения содержания глутатиона в мозгу крыс разного возраста при иммобилизационном стрессе // Укр. біохім. журн., 2008. – Т. 8. – № 1. – С.119-122. 6. Чевари С., Андыл Т. Д., Штирленгер Д. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в преклонном возрасте // Лаб. дело. 1991. Т. 10. С. 9-13. 7. Hansen A.M., Caspi R.R. Glutamate joins the ranks of immunomodulators // Nat.Med. – 2010. – Vol. 16(8). – P. 856-858. 8. Newsholme P., Procopio J., Lima M.M., et al. Glutamine and glutamate: their central role in cell metabolism and function // Cell Biochem. Funct. – 2003. – Vol. 21. – P.1-9. 9. Newsholme P., Lima M., Procopio J., et al. Glutamine and glutamate as vital metabolites // Braz J Med Biol Res. – 2003. – Vol. 36. – P.153-163. 10. Platt S.R. The role of glutamate in central nervous system health and disease // Vet.J. – 2007. – Vol.173(2). – P.278-286. 11. Stadtman E.R. Oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins by radiolysis and by metal-catalyzed reactions // Annu. Rev.Biochem. – 1993. – Vol. 62. – P.797-821. 12. Stadtman E. R., Levine R. L. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins // Amino Acids. – 2003. Vol. 25. – P. 207-218. 13. Van Lente F. Free radicals // Anal. Chem. – 1993. – Vol. 65, № 12. – P. 3748-3778.

Надійшла до редколегії 24.10.12

УДК 598.2

В. Казанник, асп., О. Коваленко, студ., В. Серебряков, д-р біол. наук

РЕЗУЛЬТАТИ ОБЛІКІВ ВОДОПЛАВНИХ ТА БІЛЯВОДНИХ ПТАХІВ КИЇВСЬКОЇ АГЛОМЕРАЦІЇ У ЗИМОВИЙ ПЕРІОД 2011/2012 РР.

Було досліджено видовий склад і чисельність скупчень водоплавних та біляводних птахів Київської агломерації під час зимівлі 2011-2012 рр. Матеріал зібрано в основному за допомогою маршрутного методу. Виявлено 20 видів, чисельність упродовж зимівлі коливалася у межах 3600 – 3900 особин. Найчисельніший зимуючий вид – крижень. Два види птахів занесені до Червоної книги України.

Ключові слова: видовий склад птахів, агломерація.

Были исследованы видовой состав и численность скоплений водоплавающих и околоводных птиц Киевской агломерации во время зимовки 2011-2012 гг. Материал собран в основном с помощью маршрутного метода. Выявлено 20 видов, численность зимующих птиц колебалась в пределах 3600 – 3900 особей. Многочисленный зимующий вид – крижень. Два вида птиц занесены в Красную книгу Украины.

Ключевые слова: видовой состав птиц, агломерация.

Species diversity and number of the concentrations of waterfowl and waterbirds of the Kyiv agglomeration during wintering 2011-2012 was investigated. The material was collected mainly through the route method. 20 bird's species were registered. Number varied from 3600 to 3900 individuals during wintering, Mallard is the most numerous. 2 bird's species are listed in the Red Book of Ukraine.

Keywords: composition bird, agglomeration.

Вступ. За фізико-географічним положенням територія Києва та околиць належить до двох фізико-географічних зон: зони мішаних лісів Полісся і Лісостепової зони та лежить у межах Дніпровського екологічного коридору [4; 9] (Рис. 1). Середні місячні температури повітря зимового періоду в м. Києві становлять $-2,3^{\circ}\text{C}$ у грудні, $-5,6^{\circ}\text{C}$ у січні та $-4,2^{\circ}\text{C}$ у лютому. Унаслідок діяльності людини температура в самому місті завжди на кілька градусів вища, ніж на його околицях і вища, ніж у малих містах, що розташовані південніше. До того ж водойми міста зазнають штучного підігріву внаслідок скидання в них стічних та виробничих вод. Тому навіть у великі морози водні об'єкти замерзають не повністю, на них залишаються різні за площею ділянки відкритої води. Коливання рівня води у р. Дніпро внаслідок роботи Київської ГЕС у зимовий період також сприяє утворенню та подальшому збереженню різноманітних за площею та розташуванням ополонів із відкритою водою. У теплі зими водойми Києва та околиць взагалі можуть залишатися повністю чи більшою мірою вільними від льодового покриву. Починаючи з 70-х рр. XX ст. ці явища разом із добре розвинутою водною мережею Київської агломерації та достатньою кормовою базою сприяють формуванню регулярних і місцями масових зимівель водоплавних та біляводних птахів. Важливу роль в утворенні скупчень зимуючих птахів та успішності зимівель, особливо для деяких видів, відіграє штучна підгодівля птахів людьми [15]. Слід відмітити, що на зимівлі з'явилася низка нових видів (у т. ч. рідкісних), які раніше не спостерігалися [3; 7; 12]; на Дніпрі біля Києва під час зимового періоду трапляються навіть такі глобально вразливі види, як гуска мала (*Anser erythropus*) та лебідь малий (*Cygnus bewickii*) [10; 11]. Ці процеси із часом набувають все більшого розвитку й потребують спеціальних досліджень. Тому вже понад 30 років орнітологами проводиться моніторинг зимівель птахів водно-болотного комплексу, зокрема співробітниками кафедри зоології Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Дана робота є продовженням і, відповідно, складовою частиною багаторічних спостережень за зимуючими птахами Київської агломерації.

Метою роботи було з'ясувати видовий склад та чисельність угруповань водоплавних і біляводних

птахів м. Києва та його околиць протягом зимівлі 2011–2012 рр.

Матеріали та методи. Матеріал зібрано у середині грудня 2011 р. (перший облік, у Табл. 1 позначений I) та в середині лютого 2012 р. (другий облік, у Табл. 1 позначений II) під час одноденних піших екскурсій. Були досліджені наступні території (Рис. 1): територія біля Бортницької очисної системи (дренажний канал, яким відбувається скидання очищених стічних вод у Дніпро, гирло каналу та прилегла до нього ділянка русла Дніпра), озеро Вирлиця, русло Дніпра на Оболоні із затоками (Верблюд, Собаче Гирло, Оболонь) від місця впадіння р. Десна до Московського мосту, Оболонські озера (озерна система Опечень) разом із оз. Редькине, Оріхуватські ставки, Голосіївські озера та озера Тельбін. Під час другого зимового обліку дослідженнями було охоплене русло Дніпра на Оболоні до Паркового мосту. На озерах Тельбін проведений тільки один (другий) облік. Проводився якісний (видове різноманіття) та кількісний облік птахів водно-болотного комплексу. Як основний використовували маршрутний метод обліку птахів [14], рідше – облік із однієї точки (на різних за площею незамерзлих ділянках Дніпра та, частково, на оз. Вирлиця) [2]. На маршруті враховувалися усі водоплавні та біляводні птахи, що були зафіксовані на даній території [13]. Для спостережень використовували бінокль 10×50 та зорову трубу 20×. Птахів у польових умовах визначали за визначником "Птахи фауни України" [17]. У роботі наведені українські назви птахів та систематичне розташування видів у таблиці згідно "Анотованого списку українських наукових назв птахів фауни України (з характеристикою статусу видів)" [18]. Наукові латинські назви птахів наведено за Л.С. Степаняном [16].

Результати та їх обговорення. Початок зимівлі. Грудень 2011 р. видався теплим і безсніжним. Середня місячна температура повітря в м. Києві за цей місяць становила $+2,2^{\circ}\text{C}$. Усі водойми залишалися вільними від льоду, тому скупчення зимуючих водоплавних і біляводних птахів ще не до кінця сформувалися і характеризувалися нестабільністю видового та кількісного складу. Якщо чисельність птахів була вже достатньо високою, то видовий склад ще залишався відносно бідним. Найбільше у кількісному відношенні угруповання відмічене 10.12 на озері Вирлиця: 1768 особин 6 видів птахів (Табл. 1).

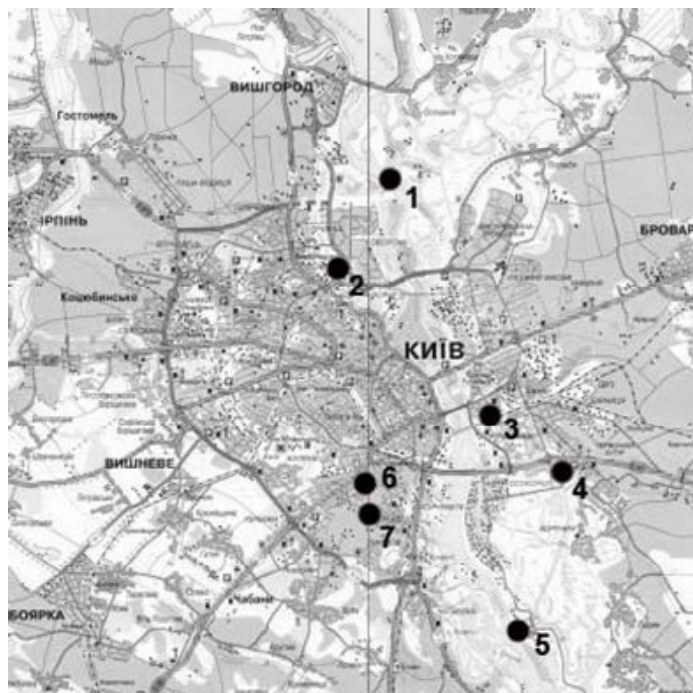


Рис. 1. Схема розташування територій, на яких здійснювався збір матеріалу (нумерація відповідає такій у Табл. 1): 1 – русло Дніпра на Оболоні із затоками Верблюд, Собаче Гирло, Оболонь; 2 – Оболонські озера (Опечень); 3 – озера Тельбин; 4 – озеро Вирлиця; 5 – територія біля Бортницької очисної системи; 6 – Оріхуватські ставки; 7 – Голосіївські озера

Беззаперечно домінуючим був крижень (*Anas platyrhynchos*) – обліковано близько 1500 особин. У грудні 2008 р. тут відмічали до 2000 ос. крижня [12]. Також значною на озері у грудні 2011 р. була чисельність лиски (*Fulica atra*) – 146 особин та мартина звичайного (*Larus ridibundus*) – 108 ос. (основна частина птахів – дорослі, молоді особини становили незначну кількість). Над озером спостерігали 3 особини чепури великої (*Egretta alba*), що пролітали у напрямку Дніпра. Велика чисельність крижня відмічена 11.12 на Оріхуватських ставках – 292 ос. (154♂, 138♀). На Голосіївських озерах на зимівлі вперше нами відмічений рибалочка (*Alcedo atthis*) – 1 птах тримався на найближчому до проспекту Науки озері.

У результаті обліків на Оболоні (Дніпро із затоками) 17.12 виявлено 5 видів птахів загальною кількістю 1011 особин. Найбільш численним був мартин сивий (*Larus canus*) – 590 ос., із них близько 300 птахів відмічено над Дніпром біля Московського мосту. Меншою була чисельність крижня – 305 ос. (163♂, 142♀), із них 234 особини – у затоці Оболонь. На руслі Дніпра трохи вище Московського мосту відмічений поодинокий самець кряка великого (*Mergus merganser*) (Табл. 1). Із 205 особин 4 видів водоплавних та біляводних птахів озерної системи Опечень 137 особин припадає на крижня (72♂, 65♀), із них 90 особин трималися на озері Редькине. Чисельність крижня є найвищою у порівнянні із зимовими сезонами попередніх років. Відмічено 3 види мартинів: мартин звичайний – 33 ос., мартин жовтоногий (*Larus cachinnans*) – 4 ос. та 31 особина мартина сивого. У попередні роки в осінньо-зимовий період на озерах нами регулярно відмічалася лиска, чисельність якої становила 20-30 особин (власні спостереження, [12]). У грудні 2011 р. цих птахів на озерах не виявлено.

Під час обліків у грудні 2011 р. найбільше видове різноманіття водно-болотних птахів відмічене 21.12 на Бортницькому каналі та на Дніпрі біля його гирла – 9 видів, чисельність яких виявилася, однак, невисокою – 323 особини. Найбільше обліковано мартина сивого – 129 ос. та крижня – 109 ос. Був відмічений лебідь-

шипун (*Cygnus olor*) – 8 дорослих та 2 молодих птахів летіли над околицею мікрорайону Бортничі (Табл. 1). Порівняно із попередніми роками, чисельність зимуючих чапель на каналі виявилася найвищою: 11 особин чепури великої та 42 особини чаплі сірої (*Ardea cinerea*). У зимовий сезон 2008/2009 рр. тут відмічено 29 ос. чаплі сірої та 7 – чепури великої. На той час це була найвища чисельність зимуючих на Бортницькому скидному каналі чапель; як бачимо, Бортницький канал із кожним роком набуває все більшого значення для зимівлі чаплевих Київської агломерації [12]. Також 21.12.2011 р. на озері Тягле було обліковано 312 особин крижня (дані не занесені до таблиці, бо припускаємо, що ці птахи можуть перелітати сюди із розміщеного поряд оз. Вирлиця, на якому вже проводилися обліки).

Середині зимівлі. Початок січня 2012 р. виявився теплим, сніговий покрив ще не утворився; температури повітря коливалися в межах -4°C – $+5^{\circ}\text{C}$. Суттєве похолодання почалося тільки з другої половини місяця і супроводжувалося значними снігопадами. Середня місячна температура повітря склала $-4,0^{\circ}\text{C}$.

На початку лютого встановилася дуже морозна погода. Столпчик термометра в м. Києві опускався до -27°C , а середня місячна температура повітря склала $-10,0^{\circ}\text{C}$. Унаслідок цього майже всі водойми міста та околиць, придатні для перебування водоплавних птахів, опинилися під льодовим покривом. Повністю вкрилися кригою оз. Вирлиця, Оболонські озера, Голосіївські озера, затоки Дніпра Верблюд, Собаче Гирло та Оболонь, оз. Тельбин. Майже повністю замерзли Оріхуватські ставки та оз. Нижній Тельбин. Під кригою опинився і Дніпро, повністю замерзло навіть гирло Десни. Відкрита вода залишалася тільки на кількох невеликих ділянках його русла на Оболоні й ближче до центру міста, а також біля місця скидання у Дніпро підігрітих стічних вод із Бортницької станції аерації та, власне, сам канал, яким відбувається скидання. Тому водоплавні та біляводні птахи змушені були переміщуватися на ці невеликі за площею ділянки відкритої води, утворивши значні за чисельністю та видовим різноманіттям скупчення.

Озера Тельбин. 11.02.2012 р. над оз. Тельбин відмічено 26 особин мартина звичайного (3 juv, 23 ad) та велику зграю мартина жовтоногого, що складалася із близько 100 птахів (із них більшість становили дорослі птахи, молодих всього кілька особин). На незамерзлій ополонці Нижнього Тельбину трималися 52 крижні (23♂, 29♀) та 16 особин лиски. Із настанням вечора та сутінок у напрямку Дніпра почали летіти зграї із 5-50 особин мартина жовтоногого, усього було відмічено 153 особини. На озерах обліковано 347 особин водоплавних та біляводних птахів (Табл. 1).

Оболонь. У результаті обліку, проведеного 16.02.2012 р., відмічено 591 особину 7 видів птахів. Більше, ніж утричі, порівняно із першим зимовим обліком, зросла чисельність мартина жовтоногого: його обліковано 237 особин (207 ad, 30 juv), що складає найбільшу частку серед усіх відмічених птахів. Трохи менше відмічено крижня – 193 особини (107♂, 86♀), його чисельність зменшилася, порівняно із обліком у грудні 2011 р. Менше було зустрінуто і мартина звичайного – 5 особин проти 40. Значно зросла чисельність креха великого – із 1 ос. у грудні до 118 особин (41♂, 77♀) у лютому. Не виявлено мартина сивого, але відмічено 3 види, яких не було під час першого обліку: лебідь-шипун (2 дорослі особини летіли вгору по Дніпру і сіли на кригу неподалік гирла Верблюда), гоголь (*Bucephala clangula*) – 35 ос. та орлан-білохвіст (*Haliaeetus albicilla*) (1 доросла особина трималася біля замерзлого гирла Десни). Найбільші згуртування птахів спостерігали на ополонках, що розташовувалися майже під мостами через Дніпро – Московським та Петрівським залізничним. Біля Московського мосту відмічено 324 особини 5 видів (крижень – 130, гоголь – 8, крех великий – 21, мартин звичайний – 5, мартин жовтоногий – 160 особин). Біля Петрівського залізничного мосту відмічено 206 особин 3 видів птахів (крижень – 60, крех великий – 74, мартин жовтоногий – 72 особини) (Табл. 1).

Найбільше водоплавних та біляводних птахів як у кількісному відношенні, так і стосовно видового різноманіття сконцентрувалося на *Бортницькому скидному каналі* та на невеликій за площею ополонці Дніпра біля його гирла. Тут 17.02.2012 р. було відмічено 2946 особин 20 видів птахів. Абсолютну більшість становив крижень – 2182 особини, із них на каналі було обліковано 2137 ос. Другим за чисельністю видом був гоголь – 346 ос. (345 із них відмічено біля гирла каналу), третім – крех великий – 152 особини (113 ос. на ополонці біля гирла). Біля гирла каналу трималася велика зграя лебедя-шипуна – 85 ос. (39 ad, 46 juv); цей вид зимує тут майже регулярно [6; 7]. Було відмічено 4 кликуни (*Cygnus cygnus*) (2 дорослі птахи та 2 птахи другого року життя), які трималися осторонь від шипунів. Лебідь-кликун зустрічається на зимівлі значно рідше шипуна, що підтверджують власні спостереження та літературні дані [20], хоча в останні роки став звичайним зимуючим видом на середньому Дніпрі [5]. На ополонці також трималися 12 особин попелюха (*Aythya ferina*), 10 – чорні чубатої (*Aythya fuligula*) та самець креха малого (*Mergus albellus*). Самка креха малого відмічена також на каналі. Порівняно із першим зимовим обліком зросла чисельність мартина жовтоногого, але зменшилась чисельність мартина сивого. Зменшилась також чисельність чапель – чепури великої та чаплі сірої: 7 і 16 особин у лютому проти 11 і 42 особин у грудні відповідно. Уздовж каналу нами спостерігалися 6 особин баклана великого (*Phalacrocorax carbo*), що трималися на деревах. Загалом у Київській області баклан великий відмічається як рідкісний зимуючий вид [1]. Однією з найвищих, порівняно із обліками попередніх років [3; 6; 12;

20], була чисельність зимуючих тут орланів-білохвостів – відмічено 5 молодих особин біля скидного каналу неподалік від його впадіння у Дніпро та 2 дорослі особини на каналі ближче до Бортницької станції аерації. Крупні згуртування зимуючих орланів – до 10-12 особин – спостерігали тут і раніше [8]. Цікавим є спостереження 4 особин вівсянки очеретяної (*Emberiza schoeniclus*), що є нечисленним та нерегулярно зимуючим видом м. Києва та його околиць (табл. 1).

Висновки. У зимовий період 2011/2012 рр. на території Київської агломерації відмічено 20 видів водоплавних та біляводних птахів, які відносяться до 8 рядів (Pelecaniformes, Ciconiiformes, Anseriformes, Falconiformes, Gruiformes, Charadriiformes, Coraciiformes, Passeriformes). Із них два види – гоголь та орлан-білохвіст занесені до Червоної книги України [19]. Під час першого зимового обліку у 6 локалітетах було відмічено 12 видів птахів загальною чисельністю 3603 особини, під час другого обліку у 4 локалітетах – 20 видів, чисельність яких становила 3885 особин. Протягом зимівлі 2011–2012 рр. найбільше видове різноманіття та найбільша чисельність птахів були відмічені 17.02.2012 р. на Бортницькому скидному каналі та на невеликій за площею ополонці Дніпра біля його гирла – 2946 особин 20 видів. Найбільш численним зимуючим видом є крижень – під час другого зимового обліку нараховано понад 2400 особин; чисельність була стабільною протягом зимівлі: під час кожного з двох обліків відмічено приблизно ту саму кількість птахів. Численними видами на зимівлі були також мартини – сивий, жовтоногий та звичайний, але чисельність їх коливалася у значних межах упродовж періоду зимівлі та між різними локалітетами. Спороадично високою і залежною від погодних умов була чисельність лиски, гоголя та креха великого. Була відмічена низка видів, які є рідкісними та нечисленними на зимівлі, зокрема баклан великий, лебідь-кликун, широконоска (*Anas clypeata*), крех малий, орлан-білохвіст, коловодник лісовий (*Tringa ochropus*) та вівсянка очеретяна. Загалом угрупованням зимуючих водоплавних і біляводних птахів Київської агломерації у сезоні 2011/2012 рр. були притаманні різкі стрибки чисельності та видового складу (окрім крижня) унаслідок швидких докорінних змін погодних умов і характерний постійний перерозподіл птахів по доступним для перебування, живлення та відпочинку територіям.

Концентрація зимуючих птахів на обмеженій за площею території, незважаючи на близькість такого великого міста, як Київ, із одного боку, свідчить про наявність тут близьких до оптимальних умов для зимівлі. Але з іншого боку ця обставина створює небезпечну ситуацію, коли таких птахів дуже легко здобувати бракон'єрам, адже водоплавні не мають куди подітися (усі інші придатні місцемешкання закуті у кригу) і вимушені триматися обмежених за кількістю та площею ділянок відкритої води. Саме за таких умов відбувалося хижацьке здобування крижня у січні-лютому 2012 р. на Бортницькому скидному каналі. Це одна із проблем, що потребує негайного вирішення з боку відповідних органів влади та природоохоронних організацій.

Список використаної літератури. 1. Бондарчук Ю.М., Пшеничний С.В., Каминская Н.В. и др. Современный статус большого баклана (*Phalacrocorax carbo*) на внутренних водоемах Украины // Бранта: сборник научных трудов Азово-Черноморской орнитологической станции. – 2008. – Вып. 11. – С. 16–22. 2. Вергелес Ю.И. Количественные учеты населения птиц: обзор современных методов // Беркут. – 1994. – Т. 3, Вып. 1. – С. 43–48. 3. Гаврилюк М.Н. Кадастр місць зимівлі орлана-білохвоста, *Haliaeetus albicilla* (L.), в Україні за 1994–2006 рр. // Знахідки тварин Червоної книги України. – К., 2008. 4. Гавриш Г.Г., Бабич О.Г. Особливості орнітогеографічного районування Полісся і Лісостепу України в зв'язку з завданнями вивчення авіафауни // Облік птахів: підходи, методики, результати: Збірник наукових статей Другої міжнарод-

ної науково-практичної конференції, 26–30 квітня 2004 р. – Житомир, 2004. 5. Грищенко В.М., Яблоновська-Грищенко Є.Д. Нові дані про рідкісних та маловивчених птахів північної України // Беркут. – 2008. – Т. 17, Вип. 1–2. – С. 5–9. 6. Давиденко І.В., Сылко А.В. Зимовка птахів в районі очистних споруд г. Києва зимою 2000/2001 гг. // Авіфауна України. Додаток до журналу "Беркут". – 2002. – Вип. 2. – С. 70–73. 7. Костюшин В.А., Полуда А.М. Учеты водно-болотных птиц на Днепре в районе Киева зимой 2005/2006 гг. // Беркут. – 2007. – Т. 16, Вип. 2. – С. 275–276. 8. Лопарев С.А., Грищенко В.Н. Зимовки орлана-белохвоста на Среднем Днепре // Беркут. – 1992. – Т. 1. – С. 62–64. 9. Онищенко В.А., Костюшин В.А., Ткаченко В.О. Концепція Дніпровського екологічного коридору // Дніпровський екологічний коридор. – К.: Wetlands International Black Sea Programme, 2008. 10. Полуда А.М. Зимовка пскульки (*Anser erythropus*) в Киевской обл. // Вестник зоологии. – 2004. – Т. 38, Вып. 4. – С. 74. 11. Полуда А.М. Зимовка малого лебедя, *Cygnus bewickii* (Aves, Anseriformes), в Киевской области // Вестник зоологии. – 2007. – Т. 41, Вып. 4. – С. 376. 12. Пшеничний С.В., Турчик А.В., Мартушева О.О. та ін. Зимові обліки птахів водно-болотного комплексу в Києві та околицях у 2008–2009 рр. // Природничий альманах: Збірник наукових праць VI Міжнародної наукової конференції "Фальцфейнівські читання", Інститут природознавства Херсонського державного університету, 21–23 травня 2009 р. – Херсон, 2009. 13. Равкин Ю.С., Ливанов С.Г.

Основные методы и подходы к изучению пространственно-типологической неоднородности населения птиц в среднем и мелком масштабе // Орнитогеография Палеарктики: современные проблемы и перспективы / Под ред. Ю.С. Равкина, Г.С. Джамиризова и С.А. Букреева. – Махачкала, 2009. 14. Равкин Е.С., Челинцев Н.Г. Методические рекомендации по комплексному маршрутному учету птиц. – М., 1990. 15. Серебряков В.В., Пшеничний С.В. Особливості зимівель водоплавних та коловодних птахів в Українському Поліссі за результатами всеукраїнських зимових обліків // Облік птахів: підходи, методики, результати: Збірник наукових статей Другої міжнародної науково-практичної конференції, 26–30 квітня 2004 р. – Житомир, 2004. 16. Степанян Л.С. Конспект орнитологической фауны СССР / Ответств. ред. академик В.Е. Соколов. – М., 1990. 17. Фесенко Г.В., Бокотей А.А. Птахи фауни України: польовий визначник. – К., 2002. 18. Фесенко Г.В., Бокотей А.А. Анотований список українських наукових назв птахів фауни України (з характеристикою статусу видів). Видання третє, доповнене. – Київ – Львів, 2007. 19. Червона книга України. Тваринний світ / За ред. І.А. Акимова. – К., 2009. 20. Яненко В.О., Пшеничний С.В., Турчик А.В., Казанник В.В. Результати зимових обліків водоплавних та коловодних птахів у районі очисних споруд м. Київ 2009–2010 рр. // Екологія боліт і торфовищ: Збірник наукових статей. – К., 2012.

Надійшла до редколегії 29.10.12

УДК 631.46.631.445.41:631.84

І. Малиновська, д-р с.-г. наук,
І. Домбровська, канд. біол. наук

ОСОБЛИВОСТІ МІКРОБНИХ УГРУПОВАНЬ РИЗОСФЕРИ ФІТОЦЕНОЗІВ РІЗНОГО ТИПУ

Досліджували мікробні угруповання ризосфери валіськокострицевого, наземнокуничникового і конюшинного фітоценозів багаторічного перелогу. Встановлено, що коренева зона конюшини характеризується підвищеною чисельністю амоніфікаторів, нітрифікаторів, полісахаридсинтезуювальних бактерій і мобілізаторів мінеральних фосфатів, зниженою чисельністю мікроміцетів, азотобактера і автохтонних мікроорганізмів. Активність мінералізації гумусу в кореневій зоні конюшини у 1,23 рази нижча за відповідний показник кореневої зони валіськокострицевого і у 2,44 рази – наземнокуничникового фітоценозів.

Ключові слова: мікробні угруповування, фітоценози, коренева зона, бактерії.

Исследовали микробные группы ризосферы валискокрострицевого, наземнокуничникового и конюшинного фитоценозов многолетнего перелога. Установлено, что корневая зона клевера характеризуется повышенной численностью амонификаторов, нитрофикаторов, полисахаридсинтезирующих бактерий и мобилизатора минеральных фосфатов, пониженной численностью микромицетов, азотобактера и автохтонных микроорганизмов. Активность минерализации гумуса в корневой зоне клевера в 1,23 раза ниже соответствующего показателя корневой зоны валискокрострицевого и в 2,44 раза – наземнокуничникового фитоценозов.

Ключевые слова: микробные группы, фитоценозы, корневая зона, бактерии.

Studied rhizosphere microbial populations of Festuca valesiaca, Calamagrostis epigeios, Trifolium repens phytocenosis long fallow. Established that the root zone of Trifolium repens characterized by an increased number of ammonifying, nitrifying bacteria, bacteria that synthesize polysaccharides, phosphate mobilizing bacteria and reduced the number of micromycetes, azotobacter and autochthonous microorganisms. Activity mineralization of humus in the root zone of Trifolium repens phytocenosis at 1,23 times lower than the corresponding figure root zone of Festuca valesiaca phytocenosis and at 2,44 times lower than the corresponding figure root zone of Calamagrostis epigeios phytocenosis.

Keywords: microbial groups, phytocenosis, root zone, bacteria.

Вступ. Рослини впливають на розвиток мікроорганізмів у прикореневій зоні завдяки виділенню корневих ексудатів. Відносно масштабів і розмірів цього процесу у літературі спільна точка зору відсутня. Так, Е.Н.Мішустін і А.Н.Наумова [1] стверджують, що загальна маса корневих ексудатів рослин у виробничих посівах не перевищує 2,5 ц/га. На відміну від вказаних авторів А.М. Гродзинський [2] вважає, що тільки водорозчинні виділення рослин складають біля 20-30 ц/га. За даними С.А.Самцевича [3], об'єм гелеподібного матеріалу чохла навколо корневих кінчиків складає за вегетаційний період у пшениці озимої біля 700 м³ на 1 га, у ячменю – 175-300 м³, у кукурудзи – 1250 м³, що відповідає масі сухої речовини 70, 17-30 і 125 ц/га. Збагачення ґрунту легкодоступними органічними речовинами проходить у період активного росту коренів за достатньої забезпеченості рослин вологою. Чим триваліший період росту кореневої системи рослин, тим більше ґрунт збагачується органічними речовинами. У ґрунті без рослинного ценозу, особливо за його рихлення, вміст водорозчинної органічної речовини швидко зменшується, оскільки вона використовується мікроорганізмами у якості енергетичного матеріалу. Кореневі екзометаболіти різних видів рослин являють собою складну суміш окремих сполук, динаміка виділення органічних речовин також специфічна для кожного виду

рослин, при цьому співвідношення між кількістю органічних кислот і цукрів, які є основними трофічними сполуками для ризосферної мікрофлори, істотно змінюється протягом вегетації рослин [4]. Істотна різниця у груповому та індивідуальному складі корневих ексудатів впливає на формування специфічного мікробного угруповання ризосфери рослин.

Отже, кількість і склад корневих виділень рослин поряд з фізико-хімічними показниками ґрунту визначає стан мікробного угруповання його ризосфери. Тому нами проводяться моніторингові дослідження впливу типу фітоценозу на чисельність та фізіологічну активність мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп мікробного угруповання сірого лісового ґрунту, який знаходиться у стані перелугу з 1987р.

Об'єкт та методи досліджень. Дослідження проведені на прикладі сірого лісового ґрунту, виведеного із сільськогосподарського використання у 1987 р., на просторово близьких ділянках: валіськокострицевий, наземнокуничниковий та конюшинний фітоценози з елементами різотрав'я. Відбір ґрунтових зразків проводили протягом другої третини вегетаційного періоду з поступовим ділянкою (протягом квітня 2007-2009 рр. на перелогах відбувалася пожежа середньої інтенсивності, в результаті якої на 90% площі вигоріло мохове покриття, лишайники, підстилка, підріст дерев). ґрунт ризосфери

рослин, які є складовою фітоценозів різного типу, відбирали за стандартною методикою [5]. Висів ґрунтової суспензії на поживні середовища проводився протягом двох годин після відбору проб. Чисельність мікроорганізмів основних еколого-трофічних, функціональних і систематичних груп оцінювали методом висіву ґрунтової суспензії на відповідні поживні середовища [5]. Показник інтенсивності процесів мінералізації сполук азоту розраховували за Є.Н. Мішустіним і Е.В. Руновим [6], індекс педотрофності – за Д.І. Нікітіним та В.С. Нікітіною [7], активність мінералізації гумусу – за І.С. Демкіною та Б.Н. Золотарьовою [8]. Кількість колоній підраховували впродовж 1-21 доби в залежності від швидкості росту і фізіологічних особливостей мікроорганізмів певної еколого-трофічної групи. Вірогідність формування бактеріальних колоній (ВФК) визначали за методом *S.Ishikuri and T.Hattori*, який описано П.А. Кожевіним та ін. [9]. Фітотоксичні властивості ґрунту визначали з використанням рослинних біотестів (пшениця озима) за Н.А. Красильниковим [10].

Статистичну обробку результатів проводили з використанням сучасних програм *Microsoft Excel*.

Результати та їх обговорення. Дослідження впливу типу фітоценозу на стан мікробного угруповання ризосфери проводяться нами в умовах багаторічного перелогу з 2006 р. [11,12]. Встановлено існування суттєвого впливу ботанічного складу фітоценозу на перебіг мікробіологічних процесів у перелоговому ґрунті. Зокрема було встановлено, що коренева зона конюшини характеризується найбільшою чисельністю мікроорганізмів з максимальною фізіолого-біохімічною активністю, уповільненням процесів мінералізації сполук азоту, деградації органічної речовини і гумусу, мінімальним накопиченням фітотоксинів порівняно із іншими фітоценозами. Наземнокуничниковий і валіськокострицевий фітоценози відрізнялися між собою за активністю освоєння органічної речовини, гумусу, мінералізації сполук азоту і фітотоксичністю ризосферного ґрунту.

В результаті проведених досліджень встановлено, що за тривалого перелогового стану сірого лісового ґрунту мікробне угруповання ризосфери конюшини відрізняється від інших досліджених фітоценозів підвищенням вмісту амоніфікувальних мікроорганізмів (табл.1). Субстратом для росту амоніфікаторів є білкові речовини корневих виділень і відмерлі фрагменти коренів і корневих волосків, тому чисельність амоніфікувальних мікроорганізмів ми розглядаємо як індикаторний показник кількості корневих виділень та їхнього збагачення речовинами білкової природи. У ряді публікацій відмічені високі біоудобрювальні властивості ексудатів бобових рослин та їх поживних залишків, які сприяють підвищенню біорізноманіття та чисельності ґрунтових мікроорганізмів [13,14]. Зокрема, Парінкіна із співавт. [14] вважає, що стимуляція мікрофлори ґрунту бобовими рослинами зумовлена значним вмістом у їхніх корневих ексудатах сполук вуглецю, які легко гідролізуються мікроорганізмами.

Мінімальною чисельністю мікроорганізмів практично всіх досліджених груп характеризується ризосфера наземнокуничникового фітоценозу, вміст мікроорганізмів у ризосфері якого на 83,4 і 63,9% менше, ніж у ризосфері валіськокострицевого і конюшинного фітоценозів відповідно (табл.1). Ризосфера конюшини не відрізняється максимальною чисельністю мікроорганізмів порівняно з іншими дослідженими фітоценозами, за виключенням амоніфікаторів, нітрифікаторів, полісахаридсинтезувальних бактерій і мобілізаторів мінеральних фосфатів (табл. 1).

Попередніми дослідженнями встановлено, що вирощування бобових у монокультурі і у складі травосумішей супроводжується інтенсифікацією денітрифікаційного процесу у їхній ризосфері, що можливо обумовлено високим вмістом сполук азоту, які синтезуються у процесі симбіотичної і асоціативної азотфіксації і які є субстратом для нітрифікації і подальшої денітрифікації [12,15]. Згідно з представленими даними, вміст денітрифікаторів та їхня фізіолого-біохімічна активність у ризосфері конюшини на 24 році перелогового стану не є вищими серед досліджених фітоценозів (табл. 1,2). Максимальною чисельністю денітрифікаторів характеризується валіськокострицевий, а максимальною фізіолого-біохімічною активністю денітрифікаторів – наземнокуничниковий фітоценози. Спалахи денітрифікаційної активності в ризосфері рослин природного фітоценозу, які спостерігалися нами у попередніх дослідженнях [12,15], є не зовсім зрозумілими, оскільки азот у перелогові ґрунті поступає тільки за рахунок прокариотної азотфіксації і повинен тісно включатися у біохімічні цикли рослин і ризосферної мікрофлори. До цього часу відомим було провокування денітрифікаційного процесу тільки за внесення екзогенних джерел азоту, зокрема, азотних мінеральних добрив.

Відомо, що позаклітинні полісахариди ґрунтових мікроорганізмів виконують багато функцій, забезпечуючи продуцентам переваги за виживання у природних умовах: допомагають витримувати тривалу посуху, акумулюючи воду у своїй матриці, за низьких водних потенціалів прискорюють дифузію низькомолекулярних поживних речовин у безпосередній близькості від клітин, беруть участь в адгезії клітин до гідрофобних субстратів і ґрунтових часточок, захищають клітини від дії біоцидів і детергентів, виконують протекторну функцію щодо споживання екзоферментів і вторинних метаболітів сторонньою мікрофлорою, інтенсифікують розчинення мінеральних елементів з важкодоступних форм, покращуючи тим самим мінеральне живлення рослин і т.ін. [16,17]. Все це дозволяє розглядати підвищену кількість полісахаридсинтезувальних мікроорганізмів як пристосування мікробного угруповання до оточуючого середовища, яке забезпечує йому селективні переваги в умовах стресу. Тому, можна вважати мікробне угруповання ризосфери конюшини більш пристосованим до виживання у природних умовах порівняно із мікробними консорціумами ризосфери двох інших фітоценозів, які містять у 4,0 рази менше полісахаридсинтезувальних мікроорганізмів.

Незважаючи на те, що чисельність мобілізаторів мінеральних фосфатів у ризосфері конюшини перевищує їхню кількість у ризосферах валіськокострицевого і наземнокуничникового фітоценозів відповідно на 63,2 і 48,0%, а питома фосформобілізуюча активність ґрунту ризосфери конюшини знаходиться на рівні аналогічних показників ґрунту інших фітоценозів, вміст рухомих сполук фосфору у ризосфері досліджених фітоценозів є приблизно однаковим (табл.3). Звертає на себе увагу більший вміст у ґрунті конюшинного фітоценозу сполук калію і різних форм азоту, що узгоджується з підвищеною кількістю полісахаридсинтезувальних мікроорганізмів і свідчить про кращі умови мінерального живлення рослин цього фітоценозу.

Вміст мікроскопічних грибів у кореневій зоні конюшини менший за аналогічні показники валіськокострицевого і наземнокуничникового фітоценозів на 89,7 і 17,9% відповідно (табл.1), що підтверджує результати попередніх досліджень про пригнічення розвитку мікроміцетів у ризосфері рослин бобових і зернобобових

культур [15]. Можливо, бобові рослини екскретують виділення такого складу, що формують мікробні угруповання з антагоністичними властивостями щодо мікроскопічних грибів, які є збудниками фітозахворювань і продуцентами токсинів. Це відображається також на рівні фітотоксичності ґрунту цього фітоценозу (табл.4).

На 24 рік перелогового стану азотобактер виявляється тільки в ризосфері наземнокуничникового (17,3% обростання грудочок ґрунту) і валіськокострицевого (21,3%) фітоценозів. Незначна кількість азотобактера у ризосфері конюшини, на нашу думку, є наслідком антагоністичного впливу з боку асоціативних і симбіотичних азотофікаторів у сапрофітному стані, що раніше було показано для інших бобових і зернобобових культур [15,18]. Це є окремим проявом конкуренції між представниками різних стратегій виживання: сумісно з рослиною (асоціативні і симбіотичні азотфіксатори) або незалежно від неї (вільноіснуючі азотфіксатори). Різна кількість азотобактера в ризосфері наземнокуничникового, валіськокострицевого і конюшинного фітоценозів підтверджують наші попередні висновки про значний вплив типу рослинного угруповання на його розвиток [11,12].

Чисельність та фізіолого-біохімічна активність автохтонних мікроорганізмів були найнижчими у ризосфері конюшини (табл.1, 2). Це знайшло відображення у тому, що активність мінералізації гумусу в ризосфері конюшини у 1,23 рази нижча за відповідний показник ризосфери валіськокострицевого і у 2,44 рази – наземнокуничникового фітоценозів (табл.4). Таким чином, підтверджуються багаторічні спостереження щодо зниження активності мінералізації гумусу в ризосфері бобових рослин у монокультурі і у складі бобово-злакових травосумішей [15,18]. Валіськокострицевий фітоценоз ха-

рактеризується на 97,3% меншою активністю мінералізації гумусу порівняно з наземнокуничниковим фітоценозом, що також співпадає з результатами попередніх досліджень [11]. Треба відмітити, що ґрунт кореневої зони конюшини характеризується найнижчими коефіцієнтами оліготрофності і педотрофності, що свідчить про уповільнення мінералізації загальної органічної речовини ґрунту в кореневій зоні цього фітоценозу. Практичним висновком отриманих результатів є визначення найефективнішого способу відтворення господарсько цінних фітоценозів на сірих лісових ґрунтах у північній частині Лісостепу – це посів бобово-злакових сумішок з включенням до їх складу конюшини, які сприяють накопиченню органічної речовини і гумусу у ґрунті, виведеному із сільськогосподарського використання.

Висновки: 1. Мікробне угруповання ризосфери конюшини відрізняється від інших досліджених фітоценозів більшою чисельністю амоніфікаторів, нітрифікаторів, полісахаридсинтезувальних бактерій і мобілізаторів мінеральних фосфатів, що дозволяє розглядати його як більш пристосоване до виживання у стресових умовах. 2. У ризосфері конюшини пригнічується розвиток мікроміцетів, що є проявом загальної властивості рослин бобових і зернобобових культур формувати мікробні угруповання з антагоністичними властивостями щодо мікроскопічних грибів. 3. Чисельність автохтонних мікроорганізмів, їхня фізіолого-біохімічна активність та інтенсивність мінералізації гумусу є найнижчими у ризосфері конюшини порівняно з відповідними показниками ризосфери валіськокострицевого і наземнокуничникового фітоценозів, що свідчить про вагомий вклад бобових рослин у відтворення родючості ґрунтів у перелоговому стані.

Таблиця 1. Вплив типу фітоценозу на чисельність мікроорганізмів у сірому лісовому ґрунті багаторічного перелугу, млн. КУО*/г абсолютно сухого ґрунту, дані 2011 р.

Тип фітоценозу	Амоніфікатори	Імобілізатори мінерального азоту	Олігонітрофіли	Азото-бактер, %обростання грудочок ґрунту	Денітрифікатори	Нітрифікатори	Педотрофи	Целюлозоруйнівні бактерії	Полісахарид-синтезувальні	Автохтонні	Стрептоміцети	Мікроміцети	Мобілізатори мінеральних фосфатів	Кг	Загальна чисельність
Валіськокострицевий	216,7	48,8	35,8	21,3	113,5	0,16	35,4	21,3	1,03	6,50	21,7	0,148	15,5	0,770	513,2
Наземнокуничниковий	101,3	35,9	32,7	17,3	8,00	0,22	15,3	30,6	1,06	5,50	13,5	0,092	17,1	0,861	279,8
Конюшинний	236,4	35,8	37,1	2,20	15,6	0,31	34,4	18,4	4,16	5,12	16,0	0,078	25,3	0,832	458,5
НІР ₀₅	15,4	2,65	3,55	3,98	1,50	0,02	0,95	2,45	0,03	0,45	1,96	0,02	1,64		

Таблиця 2. Вірогідність формування колоній мікроорганізмів у темно-сірому опідзоленому ґрунті з різним типом фітоценозу, λ, год⁻¹ 10⁻², дані 2011 р.

Тип фітоценозу	Амоніфікатори	Імобілізатори мінерального азоту	Олігонітрофіли	Нітрифікатори	Денітрифікатори	Педотрофи	Автохтонні	Целюлозоруйнівні	Мікроміцети	Мобілізатори мінеральних фосфатів
Валіськокострицевий	0,90	0,064	4,78	0,026	0,41	1,78	0,58	4,91	0,74	1,76
Наземнокуничниковий	8,66	0,032	2,96	0,010	3,53	2,18	0,58	0,85	4,91	1,20
Конюшинний	5,22	0,287	2,41	0,035	0,39	2,05	0,30	2,89	4,58	6,17

Таблиця 3. Агрохімічні показники сірого лісового ґрунту з різним типом фітоценозу, дані 2011 р.

Тип фітоценозу	N легкогідролізованих сполук, мг/кг	N-NO ₃ , мг/кг	N-NH ₄ , мг/кг	P ₂ O ₅ , мг/100г	Ступінь рухомості, P ₂ O ₅ , мг/100г	K ₂ O, мг/100г
Валіськокострицевий	74,2	0,02	21,4	24,0	0,38	12,7
Наземнокуничниковий	63,1	0,01	17,2	21,0	0,36	9,45
Конюшинний	77,0	1,40	21,8	24,0	0,34	16,5
НІР ₀₅	2,58	0,01	3,68	2,13	0,02	2,89

Таблиця 4. Показники інтенсивності мінералізаційних процесів і фітотоксичні властивості сірого лісового ґрунту з різним типом фітоценозу, дані 2011 р.

Тип фітоценозу	Індекс педотрофності	Коефіцієнт оліготрофності	Коефіцієнт мінералізації азоту	Активність мінералізації гумусу, %	Маса 100 рослин тест-культури – пшениці озимої, г		
					стебло	коріння	загальна маса
Валіськокострицевий	0,163	0,165	0,225	18,4	10,0	6,42	16,4
Наземнокуничниковий	0,151	0,323	0,354	36,3	9,71	6,62	17,3
Конюшинний	0,146	0,157	0,151	14,9	10,6	7,01	17,6
НІР ₀₅					0,30	0,20	0,24

Список використаної літератури. 1. Мишустин Е.Н., Наумова А.Н. Бактериальные удобрения, их эффективность и механизм действия // Микробиология. – 1962. – Т.31, вып.3. – С. 122-134. 2. Гродзинский А.М. Аллелопатия в жизни растений и их сообществ. – Киев: Наукова думка. – 1965. – 214 с. 3. Самцевич С.А. Корневые выделения растений и их значение // Микробиологические процессы в почвах и урожайность сельскохозяйственных культур. – Вильнюс, 1986. – С. 301-303. 4. Кравченко Л.В. Роль корневых экзометаболитов в интеграции микроорганизмов с растениями / Автореф. дис. ... докт. биол. наук: 03.00.07 – микробиология. – Санкт-Петербург, 2000. – 44 с. 5. Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. – М.: Дрофа. – 2004. – 256 с. 6. Мишустин Е.Н., Рунов Е.В. Успехи разработки принципов микробиологического диагностирования состояния почв // Успехи современной биологии. – М.: АН СССР, 1957. – Т.44. – С. 256 – 267. 7. Никитин Д.И., Никитина В.С. Процессы самоочищения окружающей среды и паразиты растений. – М.: Наука. – 1978. – 205 с. 8. Демкина Т.С., Золотарева Б.Н. Микробиологические процессы в почвах при различных уровнях интенсификации земледелия // Микробиологические процессы в почвах и урожайность сельскохозяйственных культур. – Вильнюс. – 1986. – С. 101 – 103. 9. Кожевина П.А., Кожевина Л.С., Болотина И.Н. Определение состояния бактерий в почве // Доклады АН СССР. – 1987. – Т.297, №5. – С. 183 – 214. 10. Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов / Под ред. Н.А. Красильникова. – М.: МГУ. – 1966. – 162 с. 11. Малиновська І.М. Вплив типу фітоценозу на спрямо-

ваність та інтенсивність мікробіологічних процесів у ґрунті багаторічного перелугу // Вісник Прикарпатського націон. унів.-ту. Сер. Біологія. – 2008. – Вип.11. – С.68-75. 12. Малиновська І.М., Матіюк С.П. Особливості мікробного угруповання кореневої зони фітоценозів різного типу // Збірник наукових праць Інституту землеробства. – К.:ВД "Ексмо". – 2010. – Вип. 4. – С.63-70. 13. Верховцева Н.В., Кубарев Е.Н., Минеев В.Г. Агрохимические средства в поддержании структуры микробного сообщества почвы // Доклады Рос.академ. сельскохоз.наук. – 2007. – №2. – С. 26-28. 14. Паринкина О.М., Ключева Н.В., Петрова Л.Г. Биологическая активность и эффективное плодородие почв // Почвоведение. – 1993. – №9. – С.76-81. 15. Малиновська І.М., Шумська Г.І. Вплив типу рослинного угруповання на стан мікробіоценозу дворічного перелугу // Збірник наукових праць Уманського державного аграрного університету. – Умань. – 2009. – Вип. 72. – С. 169-175. 16. Dudman W.F. The role of surface polysaccharides in natural environments // Surface carbohydrates of the procariotic cell / Ed. I.W. Sutherland. – New York: Acad.Press, 1977. – P. 357-414. 17. Малиновська І.М. Агроекологічні основи мікробіологічної трансформації біогенних елементів ґрунту / Автореф. дис. докт. с.-г. наук: 03.00.16 – екологія. – Київ, 2003. – 34 с. 18. Малиновська І.М., Боговін А.В., Пташнік М.М. Формування мікробіоценозів ґрунту за різних способів відтворення рослинних угруповань / І.М. Малиновська, // Землеробство. – К.: ВД ЕКМО. – 2009. – Вип.81. – С.105-118.

Надійшла до редколегії 05.11.12

УДК 611.91+611.92 : 572.544+572.545

В. Верещака, д-р мед. наук

ЧАСТОТА ВИНИКНЕННЯ СТАРЕЧОЇ В'ЯЛОСТІ ШКІРИ ЛЦЯ

Метою дослідження було вивчення частоти виникнення старечої в'ялості шкіри лця на основі аналізу карт амбулаторного спостереження. Вивчали частоту виникнення старечої в'ялості шкіри лця на основі аналізу карт амбулаторного спостереження 1624 осіб обох статей віком від 16 до 80 років, які звернулися за дерматокосметологічною допомогою. Аналіз поширеності старечої в'ялості шкіри лця свідчить про значну її кількість серед різних контингентів дерматокосметологічних хворих, що вимагає розробки точних і інформативних критеріїв діагностики.

Ключові слова: в'ялість шкіри обличчя, діагностика, амбулаторне спостереження.

Целью исследования было изучать частоты возникновения старческой вялости кожи лица на основе анализа карт амбулаторного наблюдения. Изучали частоту возникновения старческой вялости кожи лица на основе анализа карт амбулаторного наблюдения 1624 лиц обоего пола в возрасте от 16 до 80 лет, обратившихся за дерматокосметологической помощью. Анализ распространенности старческой вялости кожи лица свидетельствует о значительном количестве среди различных контингентов дерматокосметологических больных, что требует разработки точных и информативных критериев диагностики.

Ключевые слова: вялость кожи лица, диагностика, амбулаторное наблюдение.

The aim of that investigation was the study senile of slackness skin of face on the basis of analysis of the histories of illnesses. It was analyses the frequency of appearingsenile slackness skin of face including 1624 patients of both sexes within the age from 16 to 80 years old. Those patients asked for dermatology and cosmetology help. The analysis of development and expansion senile slackness skin shows its high quantity among different contingents of dermatology and cosmetology patients. It requires the development of accurate and precise methods of diagnosing.

Keywords: slackness skin of face, diagnosing, an office surveillance.

Вступ. Шкіра лця є найрухливішою частиною шкірних покривів, відображає індивідуальність людини, його емоційну активність, інтелект та інші особливості, які характеризують міміку і, так званий, вираз обличчя [9, 11, 18, 20]. Вона зазнає впливу факторів навколишнього середовища, що значною мірою зумовлює вікові зміни [5, 7, 10, 21]. Гістологічна структура дерми різних анатомічних ділянок має практично однакову будову,

однак з певною межею. Так, останнім часом змінилися погляди щодо патогенезу старечої в'ялості шкіри лця, в основу якого було покладено добре вивчені вікові зміни [1, 3, 4, 19, 22]. Донині старіння шкіри розглядали виключно як косметичну проблему [12, 23], однак, згідно з сучасними уявленнями, сенільні зміни виявляються зміною функціональних і захисних – механічних властивостей шкіри, що дозволило ввести поняття дерма-

топорозу [6, 13]. Воно запропоноване з позицій хронічного перебігу та зменшення резистентності. Проблема старіння шкіри під дією УФ-опромінення має велике медичне та наукове значення, оскільки з кожним роком зростає вплив на покриття тіла людини надлишкової інсоляції техногенного походження, сонячного опромінення за умов погіршення екологічної ситуації [8, 14, 15, 16, 17, 24]. Віддаленість наслідків надлишкової дії активних факторів, канцерогенний вплив на організм, тератогенні ефекти спонукають до вивчення частоти патологічних процесів, які виникають у тканинах організму. Метою цього дослідження було вивчення частоти виникнення старечої в'ялості шкіри лица на основі аналізу карт амбулаторного спостереження.

Методи та матеріали. Вивчали частоту виникнення старечої в'ялості шкіри лица на основі аналізу карт амбулаторного спостереження 1624 осіб обох статей віком від 16 до 80 років, які звернулися за дерматокосметологічною допомогою з січня 2003 року до грудня 2007 року. Всі пацієнти перебували на обліку у дерматокосметологічному відділенні спільного, ліцензованого МОЗ України, україно-угорського медичного підприємства (ліцензія АВ 300469, дерматовенерологія). Особи, які отримували допомогу, за соціальним статусом поділялися на службовців (42,61%), домогосподарок (45,44%), студентів (10,48%) і робітників (1,47%). Всі вищезазначені категорії пацієнтів за даними опитувань не мали контакту зі шкідливими факторами виробництва і не перебували в складних клімато-географічних умовах. Вірогідність відмінностей при порівнянні середніх арифметичних значень визначали за критерієм t-Студента, а при порівнянні частоти ознаки у відсотках – методом альтернативного варіювання [2].

Результати та їх обговорення. Нозологічна структура звернень у 2003 – 2007 роках наведена на рис. 1. Як свідчать статистичні дані, кількість звернень виключно дерматологічних хворих була відносно невеликою і не перевищила 10,5 %. Основну кількість становили пацієнти з шкірно-косметичними захворюваннями та вадами (63,18 %) та особи, які звернулися на профілактичні огляди (26,05%). Така нозологічна структура звернень, на нашу думку, притаманна лише дерматокосметологічним установам. Для епідеміологічних досліджень медичні карти вищезгаданих пацієнтів були розподілені на чотири групи в залежності від приводу звернення. До I групи ввійшли особи, які звернулися на прийом лікаря-дерматолога з приводу можливості отримання профілактичних косметичних процедур (косметичне очищення обличчя, косметичний масаж, маски тощо) і не висловлювали скарг на стан шкірного покриття, до II групи – особи, які звернулися за суто дерматологічною допомогою (дерматити різної етіології, екзема, atopічний дерматит, псоріаз), до III групи – особи, які звернулися за дерматокосметичною допомогою, до IV групи – особи, які звернулися з приводу старечої в'ялості шкіри лица. Пацієнти дослідних груп не відрізнялися за віком ($P > 0,05$). Наступним етапом нашого дослідження було визначення структури недерматологічної захворюваності у вище зазначених чотирьох групах залежно від причини звернення (рис. 2). Наступним етапом нашого дослідження було визначення структури недерматологічної захворюваності у

Як видно з наведених результатів, відсоток практично здорових осіб у всіх групах (окрім II) був приблизно однаковим (I група – 29,6, III група – 31,4, IV група – 32,4, $P > 0,05$ у всіх випадках). Особи I, III та IV груп практично не відрізнялися за поширеністю окремих за-

хворювань ($P > 0,05$ у всіх випадках). У II групі відсоток хворих, що мали лише дерматологічну патологію, не перевищив 9,7 і мав розбіжності з I, III і IV групами ($P < 0,01$ у всіх випадках). Відмінності за поширеністю окремих нозологічних груп було виявлено у осіб II групи відносно інших груп. Так, відсоток пацієнтів із захворюваннями шлунково-кишкового тракту становив 31,4 і мав статистичні розбіжності з I, III та IV групами ($P < 0,01$ відповідно). Відсоток осіб із захворюваннями серцево-судинної системи дорівнював 20 і наближався до значень осіб I та III груп, де він становив 15,36 і 14,07 відповідно ($P > 0,05$), однак мав відмінності з IV групою (10,78%, $P < 0,01$). Відсоток осіб з захворюваннями ендокринної системи становив 22,9 і мав суттєві відмінності з I групою (14,8 %, $P < 0,01$), III (13,1 %, $P < 0,01$), та IV (13,7 %, $P < 0,05$) групами. Зміни гормонального балансу менструального циклу у жінок II групи були виявлені у 16 % випадків, у I групі – у 21,3 %, в III групі – в 20,9 %, в IV групі – у 20,59 %, що не дало статистичних відмінностей між цими групами ($P > 0,05$). Таким чином, особи I, III і IV груп спостережень практично не відрізнялися між собою за структурою недерматологічної захворюваності.

Наступним етапом було визначення частоти виявлення старечої в'ялості шкіри лица залежно від супутньої патології. Найвищим цей показник виявився в осіб з множинними телеангіектазіями (19,6 %) та у пацієнтів з порушеннями пігментації (15,2%), що характеризує її клінічні прояви. Відсутність випадків старечої в'ялості шкіри лица у хворих з бородавками та малий відсоток її виявлення при вугровій хворобі можна пояснити, на нашу думку, молодим віком хворих.

Останнім етапом дослідження було визначення стану здоров'я хворих на старечу в'ялість шкіри лица. З 423 осіб, які були обстежені при профілактичних оглядах (I група), стареча в'ялість шкіри була виявлена у 5,9 % пацієнтів. При цьому 60% осіб з цією патологією не мали клінічних ознак супутньої патології і вважалися практично здоровими, 8% мали захворювання шлунково-кишкового тракту, 8% – серцево-судинні захворювання, 8% – ендокринні, у 16% – зміни гормонального статусу. Аналогічна структура недерматологічної захворюваності спостерігалась у осіб зі старечою в'ялістю шкіри лица, які були виявлені у пацієнтів III групи: з 924 осіб стареча в'ялість шкіри лица була у 10,5% від загальної кількості обстежених цієї групи. Особи з ознаками старечої в'ялості шкіри лица III групи (56,7 %) вважалися практично здоровими, 9,28 % пацієнтів мали захворювання шлунково-кишкового тракту, 9,28% – серцево-судинні захворювання, у 9,28 % осіб з зазначеною патологією були виявлені захворювання ендокринної системи, зміни гормонального балансу спостерігалися у 15,46 % пацієнтів. Таким чином, нозологічна структура захворюваності у осіб зі старечою в'ялістю шкіри лица, яка була виявлена в I і III групах, не мала статистично достовірних відмінностей ($P > 0,05$ у всіх випадках). Деяка інша картина спостерігалась у IV групі, де з 102 осіб, що мали ознаки старечої в'ялості шкіри лица практично здоровими вважалось 32,35 %, що зумовило статистично достовірні відмінності з I і III групами ($P < 0,05$). Захворювання шлунково-кишкового тракту спостерігалися у 22,55% обстежених IV групи, порівняно з I і III групами ($P < 0,05$). Кількість серцево-судинних захворювань не перевищила 10,78 %, ендокринних – 13,73%, зміни вмісту статевих стероїдів спостерігалися у 20,5 % осіб.

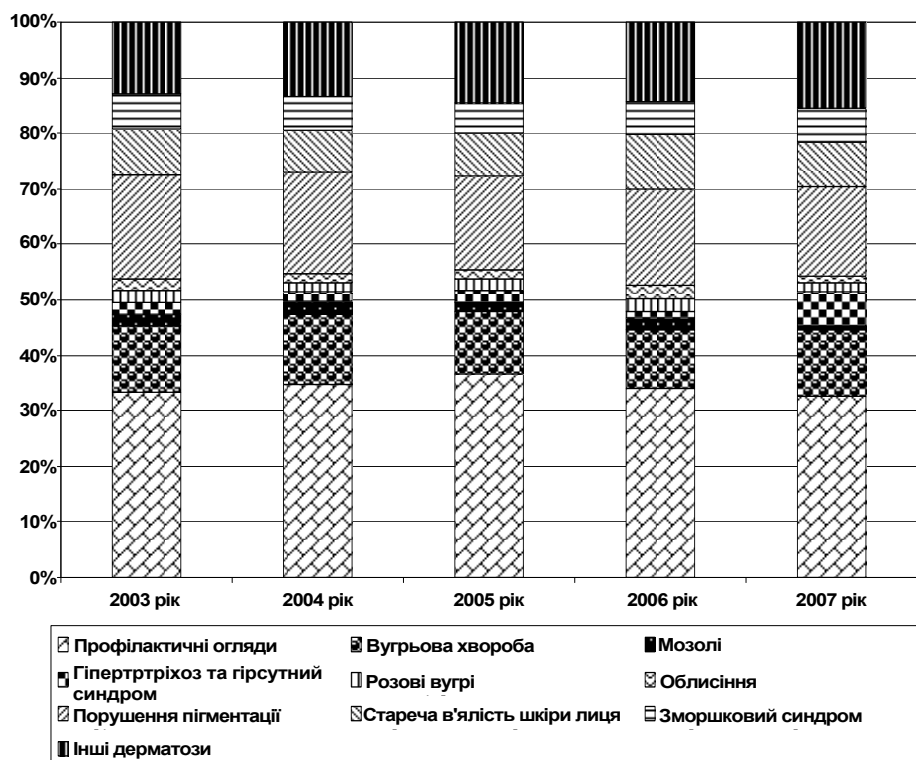


Рис. 1. Нозологічна структура звернень у 2003 – 2007 роках

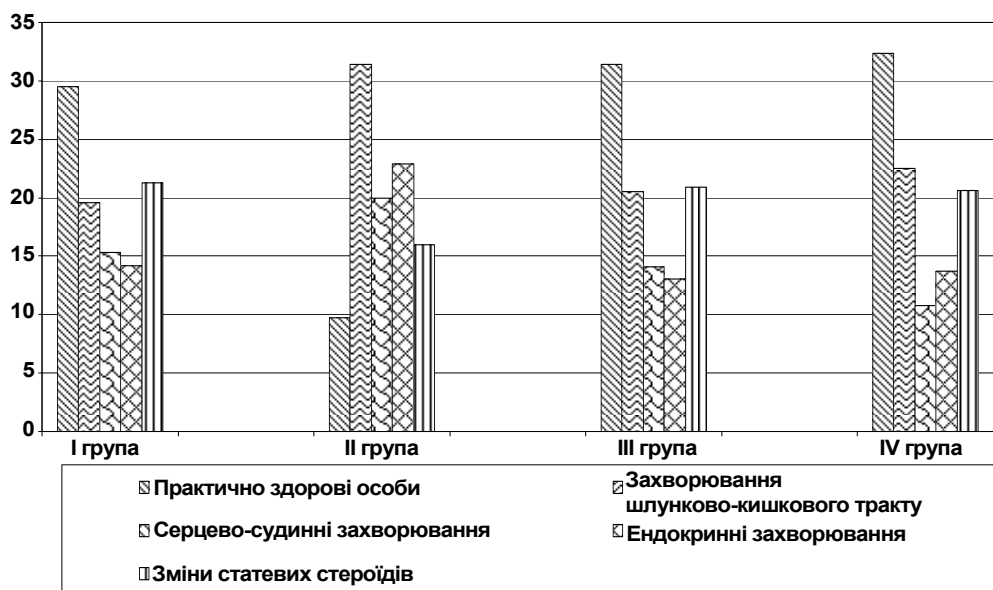


Рис. 2. Структури недерматологічної захворюваності (%) залежно від причини звернення

Висновки. Аналіз поширеності старечої в'ялості шкіри лица свідчить про значну її кількість серед різних контингентів дерматокосметологічних хворих, що вимагає розробки точних і інформативних критеріїв діагностики. Невивченим залишається питання виникнення старечої в'ялості шкіри лица у осіб, які клінічно вважалися здоровими і становили 13,93% від загальної кількості обстежених.

Список використаної літератури. 1. Белоусов А. Е. Пластическая, реконструктивная и эстетическая хирургия / А. Е. Белоусов. – СПб.: Гипократ, 2011. – 744 с. 2. Сергиенко В. И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В. И. Сергиенко, И. Б. Бондарева. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2011. – 256 с. 3. Добрев Х. Возрастови изменения в механические свойства на човешката кожа / Х. Добрев // Дерматол. венероло-

гия. – 1999. – № 2. – С. 21–26. 4. Calleja-Agius J. Skin ageing / J. Calleja-Agius, Y. Muscat-Baron, M. P. Brincat // Menopause Int. – 2007. – Vol. 13, № 2. – P. 60–64. 5. Comparison of self-reported lifetime sun exposure with two methods of cutaneous microtopography / L. Weiler, J. A. Knight, R. Vieth [et al.] // Am. J. Epidemiol. – 2007. – Vol. 165, № 2. – P. 222–230. 6. Draelos Z. D. Concepts in a multiprong approach to photoaging / Z. D. Draelos // Skin Therapy Lett. – 2006. – Vol. 11, № 3. – P. 1–3. 7. Effect of room humidity on the formation of fine wrinkles in the facial skin of Japanese / K. Tsukahara, M. Hotta, T. Fujimura [et al.] // Skin Res. Technol. – 2007. – Vol. 13, № 2. – P. 184–188. 8. Effect of smoking on skin elastic fibres: morphometric and immunohistochemical analysis / M. Just, M. Ribera, E. Monso [et al.] // Br. J. Dermatol. – 2007. – Vol. 156, № 1. – P. 85–91. 9. Facial aesthetics: achieving the natural, relaxed look / A. Carruthers, J. L. Cohen, S. E. Cox [et al.] // J. Cosmet. Laser Ther. – 2007. – Vol. 9, Suppl. 1. – P. 6–10. 10. Galeckas K. J. A pulsed dye laser with a 10-mm beam diameter and a pigmented lesion window for purpura-free photorejuvenation / K. J. Galeckas, E. V. Ross, N. S. Uebelhoer // Dermatol. Surg. – 2008. –

Vol. 34, № 3. – P. 308–313. 11. Goldstein S. A. Anatomic and aesthetic considerations in midfacial rejuvenation / S. A. Goldstein, S. M. Goldstein // *Facial Plast. Surg.* – 2006. – Vol. 22, № 2. – P. 105–111. 12. Ho T. Preoperative assessment of the aging patient / T. Ho, A. E. Brissett // *Facial Plast. Surg.* – 2006. – Vol. 22, № 2. – P. 85–90. 13. Kaya G. Dermatoporosis: a chronic cutaneous insufficiency/fragility syndrome. Clinicopathological features, mechanisms, prevention and potential treatments / G. Kaya, J. H. Saurat // *Dermatology.* – 2007. – Vol. 215, № 4. – P. 284–294. 14. Lautenschlager S. Photoprotection / S. Lautenschlager, H. C. Wulf, M. R. Pittelkow // *Lancet.* – 2007. – Vol. 370, № 9586. – P. 528–537. 15. Lupo M. P. Cosmeceutical peptides / M. P. Lupo, A. L. Cole // *Dermatol. Ther.* – 2007. – Vol. 20, № 5. – P. 343–349. 16. Makrantonaki E. Molecular mechanisms of skin aging: state of the art / E. Makrantonaki, C. C. Zouboulis // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2007. – Vol. 1119. – P. 40–50. 17. Makrantonaki E. The skin as a mirror of the aging process in the human organism – state of the art and results of the aging research in the German National Genome Research Network 2 (NGFN-2) / E. Makrantonaki, C. C. Zouboulis // *Exp. Gerontol.* – 2007. – Vol. 42, № 9. – P. 879–886. 18. Rapid picture presentation and affective engagement / J. C. Smith,

A. Low, M. M. Bradley, P. J. Lang // *Emotion.* – 2006. – Vol. 6, № 2. – P. 208–214. 19. Receptors in skin ageing and antiageing agents / I. Ghersech, M. Troiano, V. De Giorgi, T. Lotti // *Dermatol. Clin.* – 2007. – Vol. 25, № 4. – P. 655–662. 20. Serra-Renom J. M. Inferiorly pedicled tongue-shaped SMAS flap transposed to the mastoid to improve the nasolabial fold and jowls and enhance neck contouring during face-lift surgery / J. M. Serra-Renom, J. M. Dieguez, T. Yoon // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2008. – Vol. 121, № 1. – P. 298–304. 21. Sexual hormones in human skin / C. C. Zouboulis, W. C. Chen, M. J. Thornton [et al.] // *Horm. Metab. Res.* – 2007. – Vol. 39, № 2. – P. 85–95. 22. Structural characteristics of the aging skin: a review / M. A. Farage, K. W. Miller, P. Elsner, H. I. Maibach // *Cutan. Ocul. Toxicol.* – 2007. – Vol. 26, № 4. – P. 343–357. 23. Weinkle S. Facial assessments: identifying the suitable pathway to facial rejuvenation / S. Weinkle // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* – 2006. – Vol. 20, Suppl. 1. – P. 7–11. 24. Wondrak G. T. Let the sun shine in: mechanisms and potential for therapeutics in skin photodamage / G. T. Wondrak // *Curr. Opin. Investig. Drugs.* – 2007. – Vol. 8, № 5. – P. 390–400.

Надійшла до редколегії 02.01.13

УДК 615.451.1:663.88

О. Ситар, канд. біол. наук, Н. Таран, д-р біол. наук

АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ ТА ВМІСТ АНТОЦΙΑНІВ У РОСЛИН ГРЕЧКИ ТА ЛЬОНУ В УМОВАХ КУЛЬТУРИ *IN VITRO*

В умовах *in vitro* було досліджено антиоксидантну активність та вміст антоціанів у проростках гречки та льону. В екстрактах листків гречки в умовах культури *in vitro* була продемонстрована висока антиоксидантна активність (78%). Антиоксидантна активність у проростках льону була нижчою чим у проростків гречки, які були вирощені як за умов *in vivo*, так і *in vitro*. Вміст антоціанів у проростках гречки та льону, вирощених за умов культури *in vitro* був нижчий порівняно з рослинами, що були вирощені за умов *in vivo*. Поряд з цим стебла як гречки, так і льону характеризуються високим вмістом антоціанів, як за умов *in vivo*, так *in vitro*. Було продемонстровано залежність між антиоксидантною активністю та вмістом антоціанів у екстрактах проростків гречки та льону, що були вирощені, як за умов *in vivo*, так і *in vitro*.

Ключові слова: антиоксидантна активність, антоціани, умови *in vitro*, *in vivo*.

В условиях *in vitro* было исследовано антиоксидантную активность и содержание антоцианов в проростках гречихи и льна. В экстрактах листьев гречихи в условиях культуры *in vitro* была продемонстрирована высокая антиоксидантная активность (78%). Антиоксидантная активность в проростках льна была ниже чем у проростков гречихи, которые были выращены как в условиях *in vivo*, так и *in vitro*. Содержание антоцианов у проростков гречихи и льна, выращенных в условиях культуры *in vitro* было ниже по сравнению с растениями, выращенных в условиях *in vivo*. Наряду с этим стебли как гречки, так и льна характеризуются высоким содержанием антоцианов, как в условиях *in vivo*, так *in vitro*. Было продемонстрировано зависимость между антиоксидантной активностью и содержанием антоцианов в экстрактах проростков гречки и льна, выращенных, как в условиях *in vivo*, так и *in vitro*.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, антоцианы, условия *in vitro*, *in vivo*.

The antioxidant activity and anthocyanins content from extracts of seedlings of buckwheat and flax plants which were grown under conditions *in vitro* has been studied. The high antioxidant activity (78%) in the extracts of buckwheat leaves *in vitro* culture has been observed. Antioxidant activity in the extracts of flax seedlings was lower than in the extracts of buckwheat seedlings, which were grown under both conditions as *in vivo*, and *in vitro*. The anthocyanins content in the seedlings of buckwheat and flax which were grown under *in vitro* conditions was lower compared with extracts from buckwheat and flax seedlings that were grown under conditions *in vivo*. At the same time the extracts from stems of buckwheat and flax characterized by a high content of anthocyanins at the both growth conditions – *in vivo* and *in vitro*. The correlation between antioxidant activity and anthocyanins content in investigated extracts of seedlings of buckwheat and flax has been observed.

Keywords: antioxidant activity, anthocyanins, conditions *in vitro*, *in vivo*.

Вступ. Рослини виду льон на сьогодні широко використовуються в біотехнології, що часто включає в себе біохімічні та лабораторні методи досліджень регенерації рослин. В культурі *in vitro* дослідження регенерації льону проводились протягом багатьох років в різних лабораторіях з використанням різних типів експлантів для ефектної регенерації даного виду рослин [10]. Техніка регенерації у культурі *in vitro* ведеться також для отримання трансгенних рослин з певними сприятливими змінами їх функціональності. Такі зміни можуть бути ефективно введені в різний вид рослин за допомогою генної інженерії. Згадані вище зміни стосуються як особливостей якості волокна так і біохімічного складу насіння льону [5].

Але на сьогодні основний акцент для вивчення біохімічного складу рослин та для дослідження можливостей регуляції продукції певних важливих вторинних метаболітів є в маніпуляціях з середовищами культур *in vitro* для певних видів рослин. Зокрема, маніпуляції з середовищами культур *in vitro* повинні бути ефективними для зростання продуктивності та накопичення певних біохімічних сполук [10]. Шляхи експресії синтезу багатьох вторинних метаболітів легко змінюються в залежності від зовнішніх факторів, таких як рівень поживних речовин, стресові чинники, світло та регулятори росту. Багато компонентів, що використовуються для

середовищ при культивуванні рослин в культурі *in vitro* є важливими чинниками підвищення продукції та накопичення вторинних метаболітів [6]. Зокрема, умови навколишнього середовища, такі як світло [2], температура, рН середовища та кисень впливають на накопичення вторинних метаболітів у багатьох типах культур [10]. Рослини льону на сьогодні використовувались для досліджень в культурі *in vitro* в основному для вивчення регенераційних процесів, але біохімічні параметри даних рослин не я вивченими достатньо. Поряд з рослинами льону для досліджень можливості регулювання продукцією певних вторинних метаболітів в культурі *in vitro* почали використовувати рослини гречки [4].

Метою роботи було дослідити антиоксидантну активність та вміст антоціанів, як сполук антиоксидантної природи, у проростків рослин льону та гречки вирощених за умов культури *in vitro*.

Матеріали та методи. За природних умов (*in vivo*, контроль) насіння гречки та льону проростало в оранжерейі протягом 14 днів за умов 14/8 фотоперіодом при температурі 18 °C та 65% вологості. Насіння гречки звичайної та льону посівного було стерилізовано шляхом промивки поверхні в проточній воді з милом протягом 20 хвилин за асептичних умов при ламінарному потоці повітря в камері з промиванням 70% етанолом протягом

1 хвилини і замочуванням на 20 хвилин в 10% розчині гіпохлориту натрію. Після замочування насіння промивали три рази в стерильній дистильованій воді. П'ять насінин базально розміщували на агарному поживному середовищі Мурасіге та Скуге (МС) [8] в чашках Петрі (100 x 15 мм). Середовище МС з сахарозою (30 г/л) та агаром (8 г/л) з рН 5,8 стерелізували в автоклаві при 121 °С протягом 25 хв. Насіння проростало в ростовій камері за стандартних умов при дії люмінесцентної лампи з потоком частинок розміром $35 \text{ мкмоль с}^{-1}\text{м}^{-2}$ та 16/8 годинним фотоперіодом та при температурі 25°С. Після 14 днів росту та культивування рослинний матеріал було використано для біохімічного аналізу. Біологічна повторність експерименту шестикратна. Для визначення антиоксидантної активності ми використовували метод визначення антиоксидантної активності розроблений Моліна [7]. Для визначення антоціанів використовували наважку з 0,5 г листя з 10 мл суміші n-пропанолу: HCl: H₂O (18:1:81). Зразки нагрівали на киплячій водяній бані протягом 30 хв, а потім вони інкубувались протягом 24 год у темряві при 4 °С. Екстракти фільтрували і далі міряли

при довжинах хвиль 535 та 650 нм. Вміст антоціанів розраховували по формулі [3, 9] та виражали у вигляді A₅₃₅ на г сухої речовини: $A_{535} = A_{535} - 0,22 \cdot A_{650}$.

Результати та їх обговорення. Результатами попередніх досліджень було продемонстровано, що рослини гречки мають більш високий вміст загальних фенолів та антиоксидантну активність порівняно з рослинами амаранта, пшениці та лебеди і антиоксидантна активність пов'язана з вмістом загальних фенолів [1].

Тест на антиоксидантну активність показав вищу антиоксидантну активність на 28% та 140% в листках проростків гречки як за умов *in vivo* так і *in vitro* порівняно зі стеблами. В той же час антиоксидантна активність за умов *in vitro* у рослин гречки була нижче, чим у проростках гречки, що були вирощені за умов *in vivo*. За умов *in vivo* у стеблах антиоксидантна активність була вищою на 44% по відношенню до стебел проростків, що росли за умов *in vitro* (рис. 2). Попередніми дослідженнями було показано чіткий зв'язок між антиоксидантною активністю та вмістом загальних фенолів у рослинах гречки [4].

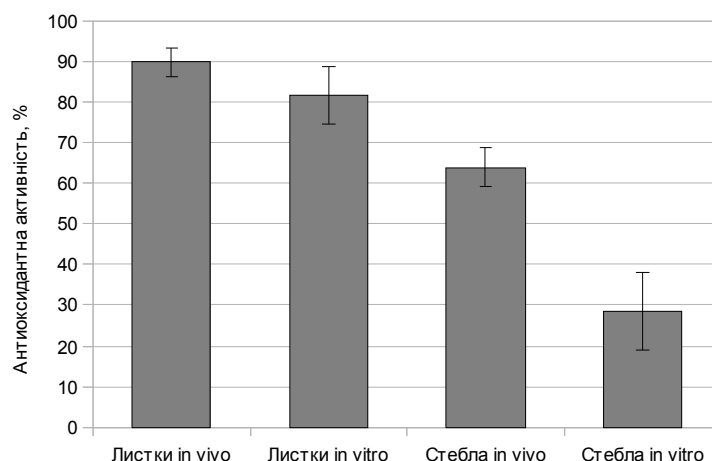


Рис. 1. Антиоксидантна активність в проростках гречки вирощених за умов *in vitro* та *in vivo*

Відомо, що насіння льону є багатющим джерелом поліненасичених кислот та інших сполук антиоксидантної природи та їх споживання може бути корисним для здоров'я людини [13]. Насіння льону (*Linum usitatissimum*) має дуже високу антиоксидантну активність і було запропоноване як важливе джерело для видобутку нафти та антиоксидантів. Основні сполуки, що відповідають за антиоксидантну активність насіння льону це аскорбінова кислоти, яка є найбільш поширеним антиоксидантом в насінні льону [11]. Проте досліджень стосовно рівня ан-

тиоксидантної активності в проростках льону не було виявлено і ми спробували визначити антиоксидантну активність в листках та стеблах проростків льону, вирощених за умов різних умов вирощування. Для листків і стебел проростків льону було виявлено, що антиоксидантна активність за умов *in vitro* у рослин льону була нижче, чим у проростках льону, що були вирощені за умов *in vivo* (Рис.2). Також антиоксидантна активність у проростках льону була нижчою чим у проростках гречки, які були вирощені як за умов *in vivo*, так і *in vitro*.

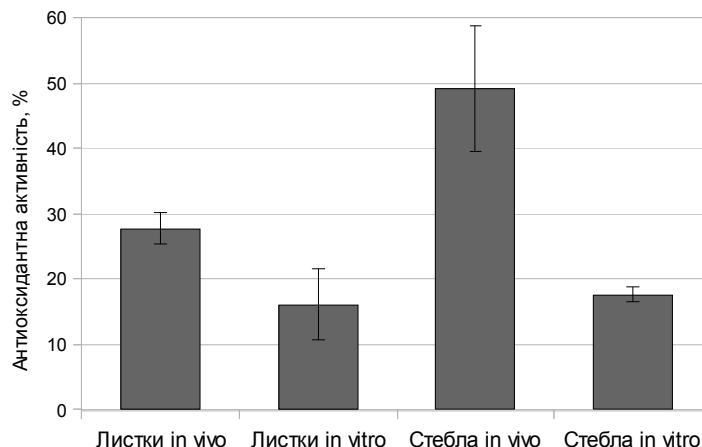


Рис. 2. Антиоксидантна активність в проростках льону вирощених за умов *in vitro* та *in vivo*

Тобто, на нашу думку, для підвищення антиоксидантної активності, що залежить від вмісту певних сполук антиоксидантної природи за умов вирощування даних рослин в культурі *in vitro* необхідно використовувати додаткові прекурсори, чи використовувати певні стресові чинники для підвищення вмісту сполук антиоксидантної природи [11]. Дане середовище Мурасіге Скуге може бути використане для культивування, але є необхідним додавання стимулюючих факторів для підвищення продукції сполук, що мають антиоксидантну активність. Зокрема, дані щодо

вмісту антоціанів для обох видів рослин продемонстрували чітку залежність між антиоксидантною активністю та їх вмістом (Рис.3,4). Вміст антоціанів у проростків гречки та льону, вирощених за умов культури *in vitro* був нижчий порівняно з рослинами, що були вирощені за умов *in vivo*. Зокрема, при вирощуванні культур *in vivo* ми припускаємо фактор повного освітлення та аерації, що сприяв накопиченню сполук антоціанової природи. У листках проростків гречки в культурі *in vitro* вміст антоціанів був нижчим майже вдвічі чим в культурі *in vivo*.

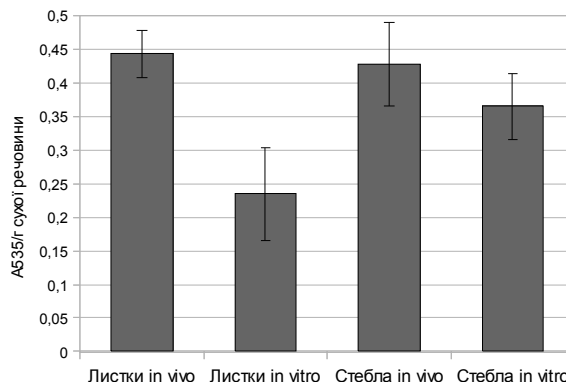


Рис. 3. Вміст антоціанів в проростках гречки вирощених за умов *in vitro* та *in vivo*

Проте у проростках льону, як в стеблах, так і в листках вміст антоціанів був однаковий, що за умов вирощування *in vivo*, так і за умов вирощування *in vitro* (Рис.4). Але вміст антоціанів у листках проростків льону порівняно з листками проростків гречки був нижчим на

33%. Але стебла містили однакову кількість антоціанів, як в проростках гречки, так і в проростках льону. Також антиоксидантна активність у стеблах проростків льону за умов *in vitro* була на тому ж рівні у стеблах гречки, вирощених за умов *in vitro*.

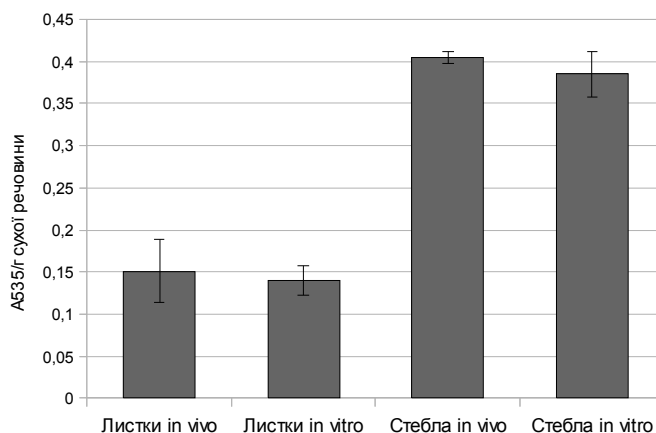


Рис. 4. Вміст антоціанів в проростках льону вирощених за умов *in vitro* та *in vivo*

Попередніми дослідженнями було продемонстровано високу антиоксидантну активність спиртового екстракту з льону (*Linum usitatissimum*) [12]. Результати наших досліджень свідчать також про високу антиоксидантну активність метанольних екстрактів проростків льону (особливо сетанольних екстрактів зі стебел). Таким чином результати досліджень свідчать про високу антиоксидантну активність метанольних екстрактів стебел як гречки, так і льону вирощених за умов *in vivo*. Поряд з цим стебла як гречки, так і льону характеризуються високим вмістом антоціанів, як за умов *in vivo*, так *in vitro*. Було продемонстровано залежність між антиоксидантною активністю та вмістом антоціанів у екстрактах проростків гречки та льону, що були вирощені, як за умов *in vivo*, так і *in vitro*.

Список використаної літератури. 1. Alvarez-Jubete L., Wijngaard H., Arendt E.K., Gallagher E. Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat, and wheat as affected by sprouting and baking // Food Chemistry. – 2010. – Vol.119 №2. – P. 770-778. 2. Chie R. *In vitro* culture of Vitis: the effects of light spectrum, manganese sulfate and potassium iodide on morphogenesis // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 1986. – №7. – P.121-134. 3. Bette A., Kutschera U. Pigment accumulation and photosynthesis in developing rye coleoptiles // Bot. Acta. – 1996. – №109. – P.194-198. 4. Gabr A.M.M., Sytar O., Abdelrahman R. A.,

Smetanska I. Production of phenolic acid and antioxidant activity in transformed hairy root cultures of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) // Australian Journal of Basic and Applied Sciences. – 2012. – Vol.6 №7. – P.577-586. 5. Mišta D., Króliczewska B., Zawadzki W., Pecka E., Steininger M., Hull S., Zuk M., Szopa J. The effect of Linola and W92/72 transgenic flax seeds on the rabbit caecal fermentation – *in vitro* study // Pol. J. Vet. Sci. – 2011. – Vol. 14 №4. – P. 557-564. 6. Misawa M. Production of useful plant metabolites. In: Fiechter A, editor. Adv Biochem Eng Biotechnol. Berlin: Springer-Verlag. 1985. – P. 59-88. 7. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity Songklanakarin // J.Sci.Technol. – 2004. – Vol. 26 №2. – P. 211-219. 8. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // Physiologia Plantarum. – 1962. – V.15. – P.473-497. 9. Lange H., Shropshire W., Mohr H. An analysis of phytochrome-mediated anthocyanins synthesis // Plant Physiol. – 1971. – Vol. 47. – P. 649-655. 10. Ling H.Q., Binding H. Improvement of plant regeneration from Linum protoplasts by the induction of somatic embryogenesis // J. Plant Physiol. – 1992. – Vol.139. – №4. – P. 422-426. 11. Westcott N.D., Muir A.D. Chemical studies on the constituents of Linum spp. In Muir, A. D. and Westcott, N. D. (ed.) flax, the genus Linum. Taylor and Francis, London. – 2003. – P. 55-73. 12. Zanwar A.A., Mahabaleshwar V. Hegde, Subhash L. Bodhankar *in vitro* antioxidant activity of ethanolic extract of Linum usitatissimum // Pharmacologyonline. – 2010. – Vol. 1. – P. 683-696. 13. Zuk M., Prescha A., Stryczewska M., Szopa J. Engineering flax plants to increase their antioxidant capacity and improve oil composition and stability // J Agric Food Chem. – 2012. – Vol 60. – №19. – P. 5003-12.

Надійшла до редколегії 14.01.13

Наукове видання



ВІСНИК
КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА
БІОЛОГІЯ

Випуск 63

Друкується за авторською редакцією

Оригінал-макет виготовлено Видавничо-поліграфічним центром "Київський університет"

Автори опублікованих матеріалів несуть повну відповідальність за підбір, точність наведених фактів, цитат, статистичних даних, відповідної галузевої термінології, імен власних та інших відомостей. Редколегія залишає за собою право скорочувати та редагувати подані матеріали. Рукописи та матеріали на електронних носіях не повертаються.



Формат 60x84^{1/8}. Ум. друк. арк. 6,7. Наклад 300. Зам. № 213-6430.
Гарнітура Arial. Папір офсетний. Друк офсетний. Вид. № **5 2-1**
Підписано до друку **05.12.12**

Видавець і виготовлювач
Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет"
01601, Київ, б-р Т. Шевченка, 14, кімн. 43
☎ (38044) 239 3222; (38044) 239 3172; тел./факс (38044) 239 3128
e-mail: vpc@univ.kiev.ua
<http://vpc.univ.kiev.ua>
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 1103 від 31.10.02