

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА
МІНІСТЕРСТВО НАУКИ І ВИЩОЇ ОСВІТИ ПОЛЬЩІ
ПОМОРСЬКА АКАДЕМІЯ В СЛУПІСКУ

ХІІІ МІЖНАРОДНА НАУКОВА КОНФЕРЕНЦІЯ
СТУДЕНТІВ ТА АСПІРАНТІВ

МОЛОДЬ І ПОСТУП БІОЛОГІЇ

ЗБІРНИК ТЕЗ
(ЛЬВІВ, 25 – 27 КВІТНЯ 2017)



ЛЬВІВ – 2017

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE
IVAN FRANKO NATIONAL UNIVERSITY OF LVIV
MINISTRY OF SCIENCE AND HIGHER EDUCATION REPUBLIC OF POLAND
POMERANIAN UNIVERSITY IN SŁUPSK

XIII INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE
FOR STUDENTS AND PHD STUDENTS

YOUTH AND PROGRESS OF BIOLOGY

BOOK OF ABSTRACTS
(LVIV, 25 – 27 APRIL 2017)



LVIV – 2017

УДК 581.1:577

Молодь і поступ біології: збірник тез XIII Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів (м. Львів, 25 – 27 квітня 2017 р.). – Львів, 2017. – 304 с.

Збірник тез конференції містить результати наукової роботи студентів і аспірантів України та зарубіжжя. За достовірність викладених наукових даних і якість тексту відповідальність несуть автори.

Для наукових працівників, аспірантів, студентів, що працюють у галузі біології та біомедицини.

Організатори конференції висловлюють глибоку подяку Українсько-американському доброчинному фонду «Сейбр-Світло»

Редакційна колегія: В. М. Мерлавський, І. С. Хамар, З. Осадовський, О. Александрович, В. І. Гончаренко, Г. М. Ткаченко, В. Л. Демчук, Г. М. Мазур, Н. І. Волосович, Ю. А. Драч, Х. А. Дронська, І. В. Рокицький, З. В. Соліляк, О. В. Тарабас, І. П. Тимків, Я. Р. Шалай, С. Ю. Макогоненко

Науковий комітет: проф. А. М. Бабський, проф. С. О. Гнатуш, доц. З. І. Мамчур, проф. В. В. Манько, проф. Н. О. Сибірна, проф. Л. О. Тасенкевич, проф. О. І. Терек, проф. В. О. Федоренко, проф. Й. В. Царик, доц. Г. М. Ткаченко

Youth and Progress of Biology: Book of Abstracts of XIII International Scientific Conference for Students and PhD Students (Lviv, 25 – 27 April 2017). – Lviv, 2017. – 304 p.

Book of abstracts contains the results of scientific work of students and PhD students from Ukraine and other countries. The authors are responsible for the trustworthiness of scientific results and for the text quality.

For scientists, PhD students and students, which work in the field of biology and biomedicine.

The Organizers of the Conference are grateful to the Ukrainian-American beneficial foundation “Seibr-Svitlo”

Editorial board: V. Merlavsky, I. Khamar, Z. Osadowski, O. Aleksandrowicz, V. Honcharenko, H. Tkachenko, V. Demchuk, H. Mazur, N. Volosovych, Yu. Drach, Kh. Dronska, I. Rokytzkyi, Z. Solilyak, O. Tarabas, I. Tymkiv, Ya. Shalai, S. Makohonenko

Scientific committee: prof. A. Babsky, prof. S. Hnatysh, ass. prof. Z. Mamchur, prof. V. Manko, prof. N. Sybirna, prof. L. Tasenkevych, prof. O. Terek, prof. V. Fedorenko, prof. Y. Tsaryk, ass. prof. H. Tkachenko

ЗМІСТ

БІОФІЗИКА	5
БІОХІМІЯ	22
БОТАНІКА ТА ІНТРОДУКЦІЯ РОСЛИН	82
ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ	99
ЕКОЛОГІЯ	128
ЗООЛОГІЯ	150
МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІЯ ТА ІМУНОЛОГІЯ	170
МОЛЕКУЛЯРНА ТА КЛІТИННА БІОЛОГІЯ	224
ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН, БІОМЕДИЦИНА	248
ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН	277
АВТОРСЬКИЙ ПОКАЖЧИК	297

CONTENTS

BIOPHYSICS	5
BIOCHEMISTRY	22
BOTANY AND PLANTS INTRODUCTION	82
GENETICS AND BIOTECHNOLOGY	99
ECOLOGY	128
ZOOLOGY	150
MICROBIOLOGY, VIROLOGY AND IMMUNOLOGY	170
MOLECULAR AND CELL BIOLOGY	224
HUMAN AND ANIMALS PHYSIOLOGY, BIOMEDICINE	248
PLANTS PHYSIOLOGY	277
INDEX OF AUTHORS	297

БІОФІЗИКА / BIOPHYSICS

Безкоровайний А.,^{1,2} Зинь А.,² Гарасим Н.,¹ Санагурський Д.¹

СУМАРНА АКТИВНІСТЬ Mg^{2+} -ЗАЛЕЖНОЇ Ca^{2+} -АТФАЗИ МЕМБРАН ЗАРОДКІВ В'ЮНА ЗА ВПЛИВУ АМІДНИХ ПОХІДНИХ 1,4-НАФТОХІНОНУ

¹ Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

² Львівський науково-дослідний експертно-криміналістичний центр МВС України

вул. Конюшинна, 24, Львів, 79040, Україна

e-mail: andriy.bezkorovajnyj@gmail.com

Bezkorovayny A.,^{1,2} Zyn A.,² Harasym N.,¹ Sanagursky D.¹ TOTAL ACTIVITY OF MEMBRANE Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP-ASE OF LOACH EMBRYOS UNDER THE ACTION OF 1,4-NAPHTHOQUINONE AMIDE DERIVATIVES. The data on the impact of 1,4-naphthoquinone derivatives on the activity of Ca^{2+} -activated Mg^{2+} -dependent ATP-ase in the early stages of development loach embryos *Misgurnus fossilis* L are presented. It was established that 2-chloro-3-hydroxy-1,4-naphthoquinone, 2-chloro-3-(3-oxo-3-(piperidine-1-yl)propylamine)-1,4-naphthoquinone, 2-chloro-3-(3-(morpholine-4-yl)-3-oxopropylamine)-1,4-naphthoquinone inhibit Ca^{2+} -activated Mg^{2+} -dependent ATP-ase membranes in dose-dependent manner.

Нафтохінони – група органічних сполук, яка займає важливе місце серед природних речовин та їх синтетичних похідних, що володіють широким спектром біологічної дії. У науковій літературі описано вплив амідних похідних 1,4-нафтохінону на ракові клітини різних ліній – KB (рак ротової порожнини), NCI-H187 (дрібноклітинний рак легень), MCF-7 (рак молочної залози) та лінії клітин Vero (епітелій нирки мавпи) [Kongkathip, 2012]. Механізми, за допомогою яких нафтохінони здатні викликати ці ефекти, є складними. Відомо, що хінони – це сполуки з високою відновною активністю, які можуть брати участь у редокс-циклі через їхні семіхінонові/гідрохінонові радикали, що призводить до формування активних форм кисню, включаючи супероксид, пероксид водню і, особливо, гідроксильний радикал [Klotz, 2014]. 1,4-нафтохінони можуть бути акцепторами в реакції Міхаеля, внаслідок чого відбувається алкілювання життєво важливих клітинних білків та/або ДНК [Wellington, 2015]. Враховуючи це, вивчення впливу новосинтезованих амідних похідних 1,4-нафтохінону різних концентрацій на активність Mg^{2+} -залежної Ca^{2+} -АТФази зародкових клітин протягом раннього ембріогенезу є актуальним і перспективним, що допоможе краще зрозуміти механізми біологічної дії цих речовин на організм.

Об'єктом дослідження були зародки прісноводної костистої риби в'юна *Misgurnus fossilis* L., який широко використовують у дослідженнях різних проблем сучасної біології та медицини. Зародки в'юна на різних синхронних стадіях розвитку (2, 16, 64, 256 та 1024 балстомерів) гомогенізували за допомогою гомогенізатора у розчині Гольтфретера. По 1 мл гомогенату кожної пробі заморожували у морозильній камері при $-20^{\circ}C$, які, в подальшому, використовували для дослідження. Кількість протеїну у кожній пробі визначали за методом Лоурі. У відібраних зразках вивчали сумарну активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази за дії 2-хлоро-3-(3-оксо-3-(піперидин-1-іл)пропіламіно)-1,4-нафтохінону (ФО-1, $M_r = 346$), 2-хлоро-3-(3-(морфолін-4-іл)-3-оксопропіламіно)-1,4-нафтохінону (ФО-2, $M_r = 348$) та вихідної сполуки їхнього синтезу 2-хлоро-3-гідрокси-1,4-нафтохінону ($M_r = 211$) у концентраціях 10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-7} М [Целевич, 2007].

Встановлено, що активність Mg^{2+} -залежної Ca^{2+} -АТФази зародкових клітин в'юна за впливу амідних похідних 1,4-нафтохінону (ФО-1 та ФО-2) та 2-хлоро-3-гідрокси-1,4-нафтохінону дозозалежно знижується (в напрямку від 10^{-7} М до 10^{-3} М)

на всіх досліджуваних етапах розвитку. Слід відзначити, що включення в структуру 1,4-нафтохінону морфолінового та піперидинілового фрагментів, сприяє менш вираженим інгібувальним властивостям похідних ФО-1 та ФО-2, порівняно з дією 2-хлоро-3-гідрокси-1,4-нафтохінону, який є вихідною сполукою їхнього синтезу.

Бено Ю.², Дика М.¹

**ДИСПЕРСІЙНИЙ АНАЛІЗ ВПЛИВУ ПОСТІЙНОГО МАГНІТНОГО ПОЛЯ
НА ПРОЦЕСИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АКТИВНІСТЬ
АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ДУРМАНУ ЗВЧАЙНОГО**

¹Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна, e-mail: mary_dyka@ukr.net

² Львівський Науково-дослідний експертно-криміналістичний центр МВС України

вул. Конюшинна, 24, Львів 79040, Україна, e-mail: urko.bn@gmail.com

Beno Yu., Dyka. M. ANALYSIS OF VARIANCE THE INFLUENCE OF STATIC MAGNETIC FIELD ON LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT SYSTEM *DATURA STRAMONIUM*. This article is about analysis of variance results of the influence of static magnetic field on the pro- / antioxidant homeostasis of *Datura stramonium* by preseedling processing of seeds. Established the changing duration of the magnetic field is a strongest factor of influence on the content of TBA-active products, superoxidedismutase and catalase activity in the extract. Intensifying the process of free radical oxidation and increase in activity antioxidant enzymes was caused long-term impact of static magnetic field on the *Datura stramonium* seeds.

Наведено результати дисперсійного аналізу впливу постійного магнітного поля (ПМП) на вміст ТБК-активних продуктів, супероксидазну і каталазну активності проростків дурману звичайного. Встановлено, що зміна тривалості магнітного поля є найсильнішим чинником впливу на вміст ТБК-активних продуктів, активність супероксиддисмутази і каталази в екстракті.

Експериментальну частину роботи проводили на насінні дурману звичайного (*Datura stramonium* L.). Вихідним матеріалом дослідження були експериментальні дані, а саме – середні значення вмісту ТБК-активних продуктів, супероксидазна і каталазна активності за дії ПМП різної інтенсивності (3,0 мТл та 10,0 мТл) та різної тривалості дії (0,5 та 22,0 год).

Найбільший вплив ПМП на зміну активності супероксиддисмутази, каталази і вміст ТБК-активних продуктів у проростках дурману звичайного встановлено за експозиції 22,0 год та напруженості поля 3,0 мТл та 10,0 мТл.

За результатами експериментальних даних було проведено двофакторний дисперсійний аналіз для оцінки впливу інтенсивності ПМП (перший досліджуваний чинник) і тривалості його дії (другий досліджуваний чинник) на активність супероксиддисмутази, каталази і вміст ТБК-активних продуктів у проростках дурману звичайного.

За результатами двофакторного дисперсійного аналізу встановлено, що найбільший вплив на досліджувані показники становить зміна тривалості дії ПМП. Частка впливу зміни тривалості дії ПМП під час дослідження вмісту ТБК-активних продуктів і активності супероксиддисмутази та каталази склала основу стимулюючого впливу і становила 71,7% ($P < 0,05$), 47,7% ($P < 0,05$) та 46,5% ($P < 0,05$), відповідно. Частка впливу зміни інтенсивності дії ПМП під час дослідження вмісту ТБК-активних продуктів і активності супероксиддисмутази та каталази була незначною та становила 2,9% ($P < 0,05$), 1,3% та 0,9%, відповідно.

Таким чином, результати двофакторного дисперсійного аналізу свідчать про те, що довготривалий вплив ПМП на насіння дурману звичайного викликає інтенсифікацію процесів вільнорадикального окиснення та зростання активності ензимів антиоксидантного захисту.

Білобров В., Вулицька Д., Матвієнко Т.

**ЗМІНА СИЛОВИХ ХАРАКТЕРИСТИК СКОРОЧЕННЯ *SOLEUS MUSCLE* ЩУРІВ
ПІСЛЯ ШТУЧНОЇ ІШЕМІЗАЦІЇ ЗА ДІЇ C_{60} FAS**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка
ННЦ «Інститут біології та медицини
проспект Академіка Глушкова, 2, м. Київ, 03022, Україна
e-mail: decanat_bf@univ.kiev.ua*

Bilobrov V., Vulytska D., Matvienko T.: THE POWER CHANGES OF SOLEUS MUSCLE CONTRACTION CHARACTERISTICS OF RATS AFTER ITS ARTIFICIAL ISCHEMIA WITH C_{60} FAS. The aim of this research was to study the influence of C_{60} FAS introduced 1 hour before ischemia on the dynamics processes of power response to stimulation of muscle irritation at his artificial ischemia for 3 hours. The development of medical nanotechnology using C_{60} FAS, opens up new possibilities in the treatment and prevention of ischemic pathologies.

Проведено дослідження впливу C_{60} FAS при його введенні за 1 годину до початку ішемізації на динаміку протікання процесів розвитку силової відповіді на стимуляційне подразнення м'язу за його штучної ішемізації протягом 3 годин.

Для ішемізації м'язів лігатурами перетягували гілку стегнової артерії тварини, яка забезпечує кровопостачання експериментального м'язу. Реперфузію, після 3 годин ішемізації, здійснювали перерізанням фіксуєної лігатури. Аплікацію C_{60} FAS у дозі 1 мг/кг здійснювали внутрішньом'язово за 1 год до початку експерименту. Динамічні параметри скорочення фіксували одразу після зняття фіксуєних лігатур протягом 1 години. Зміну сили скорочення м'язу вимірювали за допомогою надчутливих тензометричних датчиків, які працюють на основі вимірювання зміни опору масиву одностінних вуглецевих нанотрубок (SWCNTs) за їх деформації. SWCNTs були розташовані у задній частині мікропіпетки, а до передньої її частини приєднували сухожилок досліджуваного м'язу.

У контролі (без впливу фулеренів) спостерігалось зменшення максимальних силових відповідей не тільки з збільшенням часу після ішемізації, але і з збільшенням тривалості подразнюючого стимуляційного сигналу. Введення фулерену виявило значну захистну дію препарату на досліджувані силові характеристики скорочення. Найвищі якісні захисні ефекти C_{60} FAS спостерігались за максимального 5-ти секундного стимуляційного подразнення. Так, захисний ефект за максимальної силової відповіді складав 30-35%, а інтегрованої потужності більше 50% порівняно з контрольними значеннями. Виявлено більш якісний захисний вплив фулерену на дотетанічні ділянки скорочення ніж на максимальну силову відповідь, що на нашу думку, пов'язано із незворотніми патологічними змінами в генерації сили скорочення при розвитку ішемії на найбільш уразливих дотетанічних ділянках. Отже, ця різниця проявляється внаслідок нерівномірного руйнування різних молекулярних компонентів в елементах скорочувального апарату м'язу, які активуються на різних фазах скорочення і, відповідно, виявляють різні захисні ефекти фулерену на ці ділянки.

Наведені результати вказують на те, що біомеханічний аналіз захисної дії фулеренів на ішемічно пошкоджені м'язові волокна повинен включати детальний розрахунок кінематичних та динамічних характеристик руху.

Боднарчук Н., Санагурський Д.

**ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ЕНЗИМІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЗАРОДКІВ
В'ЮНА ВПРОДОВЖ РАНЬОГО ЕМБРІОГЕНЕЗУ ЗА ДІЇ ФЛУРЕНІЗИДУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
nataljabodnarchuk@ukr.net*

Bodnarchuk N., Sanagursky D. CHANGE OF ANTIOXIDANT ENZYMES ACTIVITY OF LOACH EMBRYOS DURING EARLY EMBRYOGENESIS FOR ACTIONS OF FLURENIZID. It is established that Flurenizide violates the work of superoxiddismutase on all stages of loach embryos development. It predetermines the slump of activity of this enzyme on the stage

of development 16 blastodermes. It is revealed that the investigated antibiotic concentrations 1;5;15 mM on the stage of the 10th division of blastodermes predetermines the slump of activity of superoxidismutase, while in the concentrations of 0,01mM and 0,05 mM Flurenizide causes the increase of this enzyme activity.

Флуренізид – ефективний препарат протимікробної дії, який не виявляє побічних реакцій на організм. Фізико-хімічні властивості флуренізида забезпечують високу поляризованість молекули, добру проникність через клітинну мембрану та низьку токсичність. Наявність флуореніліденового фармакофору, в молекулі флуренізида, зумовлює появу протимікробного ефекту [Драник, 1992]. Три важливі структурні фрагменти (флуоренове ядро, гідразидне угруповання, піридиновий цикл) визначають своєрідні фізичні та хімічні властивості, обумовлюють різносторонні фармакологічні ефекти [Коваленко, 2001]. Особливості електронної будови, висока поляризованість флуренізида, сприяють його легкій проникності крізь клітинні мембрани. Відомо, що флуренізид не має негативного впливу на рівень еритроцитів, гемоглобіну і тромбоцитів периферичної крові, функцію печінки та нирок. Проте на сьогодні залишається невідомою його дія на антиоксидантний стан зародкових об'єктів. Досліди проводили на зародках в'юна *Misgurnus fossilis* L. Яйцеклітини отримували і запліднювали за методом Нейфаха. Для отримання ікри, самкам внутрішньом'язово вводили хоріогонічний гонадотропін за 24–48 годин до проведення експерименту. Самця декапітували, сім'яники подрібнювали і заливали відстояною водопровідною водою. Запліднення ікри проводили в чашках Петрі, додаючи суспензію спермій. Для задовільного запліднення ікри контакт із спермою становив 5–10 хв. Потім запліднену ікру відмивали від спермій і інкубували за температури 21–22°C в розчині Гольфрета. Стадії розвитку контролювали візуально під біокулярним мікроскопом МБС-9. Дослідження проводили на зародках в'юна, які відповідали: першому (2 бластомери), четвертому (16 бластомерів), шостому (64 бластомери), восьмому і десятому дробленню зиготи (256 і 1024 бластомери, відповідно). Через 5–10 хв після запліднення відмиті зиготи інкубували у фізіологічному розчині Гольфрета ($t = 20\text{--}22^\circ\text{C}$), який містив розчин флуренізида в концентраціях 0,01 mM, 0,05 mM, 0,15 mM, 1 mM, 5 mM, 15 mM. У відібраних зразках визначали супероксиддисмутазу (СОД), каталазу (КАТ), глутатіонпероксидазу (ГПО) та глутатіон-S-трансферазу активності (GST) [Костюк, 1990; Корольок, 1988; Моин, 1986; Nabig, 1974]. Встановлено, що флуренізид пригнічує роботу СОД, на етапі розвитку 16 та 64 бластомери, з одночасним зниженням активності КАТ (етап розвитку 64 бластомери), що ймовірно, свідчить про сповільнення метаболічних процесів на цих етапах розвитку зародків в'юна. На етапі розвитку 1024 бластомери низькі концентрації антибіотика зумовлюють зростання активності СОД та КАТ, тоді як високі – спадання активності цих ферментів. Зміни роботи ГПО, у більшій мірі, не підтверджені достовірністю, і це дає змогу твердити, що флуренізид не зумовлює його ушкодження. Досліджуваний антибіотик порушує роботу GST у процесі раннього ембріогенезу зародків в'юна. За високих концентрацій він зумовлює переважające спадання GST активності, на етапі розвитку 256 та 1024 бластомерів. Флуренізид у концентрації 15mM веде до спадання GST активності, впродовж досліджу.

Вірич П., Шелюк О.

ВПЛИВ 3-ЗАМІЩЕНИХ 1,4-БЕНЗІДІАЗЕПІН-2-ОНІВ НА МАКСИМАЛЬНУ
НОРМОВАНУ ШВИДКІСТЬ БРАДИКІНІН-ІНДУКОВАНОГО СКОРОЧЕННЯ
ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ ЗА НАЯВНОСТІ БЛОКАТОРІВ КАЛЬЦІЄВИХ КАНАЛІВ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

ННЦ «Інститут біології та медицини

просп. Академіка Глушкова 2, м. Київ, 03022, Україна

e-mail: sphaenodon@ukr.net

Virych P., Shelyuk O. EFFECT 3-SUBSTITUTED 1,4-BENZODIAZEPIN-2-ONES ON
MAXIMAL NORMALIZED RATE OF BRADYKININ-INDUCED SMOOTH MUSCLE CON-

TRACTION IN PRESENCE CALCIUM BLOCKERS. Compounds MX-1775 and MX-1925 are able further reduce the normalized maximal rate in Gd^{3+} presence (300 μM) at 21.2% and 31.02% respectively. For verapamil presence (1 μM) MX-2011 is able to further reduce at 20.5%. The results suggest the interaction of these substances with bradykinin B_2 -receptor or its transduction pathways.

Причинами розвитку больового відчуття є фактичне або потенційне пошкодження тканин, що супроводжується активацією ряду систем організму спрямованих на його усунення. Крім нервової системи важливу роль в цих процесах відіграють периферичні складові, однією з яких є кінін-калікрейнова система, основним медіатором якої є брадикінін. Ініціація клітинної відповіді відбувається посередництвом ряду поверхневих рецепторів клітини. Брадикінінові рецептори спряжені з G-білками і мають 7 трансмембранних доменів (7ТМ). Існує два їх підтипи – B_1 та B_2 , що було підтверджено, використовуючи специфічні високоафінні непептидні антагоністи, радіолігандне зв'язування та клонування самих рецепторів з подальшою їх експресією. B_2 конститутивно присутній у багатьох тканинах, в той час як B_1 експресується у відповідь на розвиток запальних процесів. Модель брадикінін індукованого скорочення гладеньких м'язів є простою та інформативною при дослідженні ефективності застосування інгібіторів цих рецепторів. Науковий колектив Фізико-хімічного інституту НАН України ім. О.В. Богатського розробив новий клас перспективних сполук на основі 3-заміщених 1,4-бенздіазепінів, які володіють анальгетичною дією. Беручи за основу модель брадикінін-індукованого скорочення гладеньких м'язів шлунку щурів ми перевірили активність похідних 3-заміщених 1,4-бенздіазепін-2-онів в присутності класичних блокаторів кальцієвих каналів – верапамілу та іонів гадолінію. Для досліджень вибрано сполуки: MX-2011, MX-1775, MX-2004, MX-1925. Тензометричні вимірювання проводили на смужках гладеньких м'язів шлунку щурів у стандартному розчині Кребса при 37 °C. Концентрація брадикініну та похідних 3-заміщених 1,4-бенздіазепін-2-онів становила 10^{-6} М. Присутність у розчині Gd^{3+} в кількості 300 мкМ забезпечує зниження максимальної нормованої швидкості скорочення (V_n) на 23,1%. Відносно цього значення здійснювали порівняння дії дослідних сполук. Присутність у інкубаційному розчині MX-1775 додатково знижує V_n скорочення на 21,2%, MX-1925 – 31,02%. Статистично достовірні зміни не виявлено для MX-2004 та MX-2011. Присутність у розчині верапамілу (1 мкМ) забезпечує зниження V_n брадикінін-індукованого скорочення на 49,3%. Для сполук MX-1775, MX-2004 та MX-1925 статистично достовірні відхилення від цього показника відсутні. MX-2011 виявляє додаткове інгібування на 20,5%. Варто відмітити, що попередньо сполука MX-1775 виявляла схожість дії з конкурентним інгібітором B_2 -рецепторів – des-Arg⁹-брадикінін ацетатом, сприяючи зростанню V_n скорочення по мірі некумулятивного збільшення концентрації брадикініну в діапазоні 10^{-10} - 10^{-6} М. Можна припустити, що ці речовини здатні взаємодіяти з B_2 -рецепторами або шляхами трансдукції сигналу, що виявляється у зміні V_n .

Речовини надані д.х.н. Павловським В.І., Фізико-хімічний інститут імені О.В. Богатського НАН України. Дослідження проведені за підтримки Державного фонду фундаментальних досліджень за договором Ф64/40-2016.

Вулицька Д., Матвієнко Т., Білобров В.

**ДИНАМІКА СКОРОЧЕННЯ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ
ЗА ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ МІОПАТІЇ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка
ННЦ «Інститут біології та медицини
проспект Академіка Глушкова, 2, м. Київ, 03022, Україна
e-mail: decanat_bf@univ.kiev.ua*

Vulytska D., Matvienko T., Bilobrov V.: SKELETAL MUSCLES CONTRACTION DYNAMICS IN ALCOHOL-INDUCED MYOPATHY. Alcohol-induced myopathy is characterized

by muscles force productivity decrease. The aim of this work was to discover the features of alcohol-induced complications of muscles contraction. Rat model of chronic alcohol-induced myopathy was performed by enterogastric catheterisation method for 6 months. We found several functional changes that have significant influence on muscle contraction ability. The results of this research can be further used under clinical conditions.

Алкогольна міопатія характеризується м'язовою слабкістю, атрофією, спазмами, ригідністю й судомами м'язів. Але найбільш очевидними розладами м'язової функції під час її розвитку є загальне зменшення силової продуктивності м'язу. Тому аналіз якісних макрохарактеристик силової продуктивності м'язів з хронічною алкогольною міопатією є необхідною частиною для пошуку якісних методів подальшої терапії.

Метою даної роботи було виявити й охарактеризувати ознаки алкоголь-асоційованого ускладнення викликаних скорочень скелетних м'язів при хронічній алкогольній міопатії на підставі аналізу показників силової продуктивності м'язової системи.

Моделювання хронічної алкогольної міопатії у лабораторних щурів здійснювалось шляхом проведення хронічного експерименту з використанням методу ентерогастральної катетеризації протягом 6 місяців. Реєстрація динамічних показників скорочення здійснювалось шляхом проведення гострого експерименту з використанням методів неінгаляційної анестезії, дерматомії, фасціотомії та денервації. Для дослідження силової продуктивності та скоротливої здатності ізольованого м'язу використовувався тензометричний метод вимірювання напружено-деформованого стану ізольованого м'язового препарату на основі електричного тензорезистора.

Наші результати показали, що алкоголізація щурів протягом 6 місяців призводить як мінімум до 2-х функціональних змін показників скорочувальних процесів: перший полягає у необхідності збільшення часу релаксації для можливості адекватної м'язової відповіді на стимуляційні пули; другий - в збільшенні часу дотетанічних періодів силової відповіді м'язів при застосуванні модульованої стимуляції. Дана функціональна особливість міопатичних м'язів буде мати важливе значення для адекватної і коректної реалізації центральної моторної команди м'язовим апаратом. З отриманих даних ми можемо зробити висновки про те, що алкогольна міопатія в першу чергу буде проявлятися при виконанні точних позиціонованих рухів і корекції точної цілеспрямованої зміни в суглобових кутах. Слід зауважити, що при недостатньому релаксаційному періоді ці ефекти можуть посилюватися флуктуаційними порушеннями м'язової динаміки, тобто нездатністю м'язів до точної фіксації стаціонарних ділянок скорочення, що на тлі збільшення дотетанічної фази скорочення буде призводити до систематичних помилок точного позиціонування. Результати дослідження можуть знайти застосування у клінічних умовах для характеристики локомоторної дисфункції в постраждалих з хронічною алкогольною міопатією.

Гончаревський С.О.

**ДОСЛІДЖЕННЯ ТЕМПЕРАТУРИ РЕПРЕЗЕНТАТИВНОЇ ЗОНИ
БЛУКАЮЧОГО НЕРВУ ЛЮДИНИ ТА НАВКОЛИШНІХ ТКАНИН**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка
ННЦ «Інститут біології та медицини
проспект Академіка Глушкова, 2, м. Київ, 03022, Україна
e-mail: gonchar1@ukr.net*

S.O. Goncharevskyi. Temperature study representative area of nervus vagus and surrounding tissues. Almost all processes in the human body in one way or another are connected with the autonomic nervous system. That's why it is possible to evaluate the functional state of the person by temperature characteristics of representative points of the autonomic nervous system.

Location and information about this points are confirmed by fundamental research. However, simply measuring the temperature at some points may be insufficient to establish any systematic changes in the human body. The main aim of our research was to study temperature of representative area nervus vagus and surrounding tissues.

Існує великий фактичний матеріал про обмін речовин та енергії в організмі людини [Панов, 2010]. Відомо, що загальний рівень енергетики організму визначають шляхом термодинаміки біохімічних процесів, оскільки в них завжди присутні або виділення, або поглинання енергії, наслідком чого є зміни температури, які можуть розглядатися як інтегральні показники швидкості та якості обмінних процесів.

Враховуючи те, що всі процеси в організмі людини так або інакше пов'язані з вегетативною нервовою системою, функції якої регулюються гіпоталамусом центральним інтегратором усіх обмінних процесів в організмі, то цілком реальною є оцінка функціонального стану людини за температурними характеристиками в репрезентативних зонах вегетативної нервової системи [Седакова, 2009].

Наші попередні дослідження [Гончаревський, 2014] продемонстрували наявність змін температури протягом доби у репрезентативних зонах (РЗ) шкіри людини, які відповідають структурам краніального відділу вегетативної нервової системи (ВНС). Але чи дійсно дані зони мають певні відмінності від інших навколишніх тканин? Саме тому метою даної роботи є аналіз температури у самій репрезентативній зоні та навколишніх тканинах.

Вимірювання температури блукаючого нерва проводився в ділянці нижньої щелепи в місці біфуркації основної гілки блукаючого нерву на менші гілки для іннервації внутрішніх органів, за допомогою інфрачервоного термометру.

Температуру вимірювали як у самій репрезентативній зоні, так і у навколишніх тканинах (кожен вимір проводився на відстані 0,3 мм. від попереднього). В цілому було досліджено 16 зон як з правої, так і з лівої сторони обличчя.

Під час проведення статистичної обробки даних було відзначено статистично значущу різницю між досліджуваною зоною та іншими зонами ($P < 0,05$), що знаходяться на відстані 0,6 мм. від досліджуваної зони, як з лівої так і з правої сторони обличчя. Такий результат дозволяє нам стверджувати, що репрезентативна зона блукаючого нерву має діаметр близько 1 см., що підтверджує літературні дані [Knobel, 2011] і дає нам можливість використання її для аналізу функціонального стану блукаючого нерву.

Джула М.¹, Смакула Ю.,¹ Галан М.,¹ Сибіль М.²

МЕХАНІЗМИ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ М'ЯЗОВОЇ ДІЯЛЬНОСТІ СПОРТСМЕНІВ

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

²Львівський державний університет фізичної культури
вул. Костюшка, 11, Львів, 79000, Україна
nataljabodnarchuk@ukr.net

Jula M., Smakula J., Halan M., Sybil M. THE MECHANISMS OF ENERGY SUPPLY OF MUSCLE ACTIVITY IN SPORTSMANS. It was established statistically significant growth of indexes of energetic provision in waterpolist sportsman's organism after physical activity. The use of cycle ergometer test and the participation in the tournament are leading to intensification of anaerobic way. The work in the swimming pool – to the growth of general physical outgo.

Актуальною проблемою сучасної біологічної науки є розробка методів фізичного впливу на організм спортсмена з метою покращення його працездатності. Особлива увага приділяється не медикаментозним методам покращення фізичної витривалості, сили, швидкості реакції спортсмена.

У літературних джерелах не достатньо інформації про вплив фізичних навантажень на різні типи енергозабезпечення організму. Оскільки важливою є збалансованість між аеробною та анаеробною складовими енергозабезпечення, то вивчення показників, що характеризують ці складові, набуває особливого значення.

У дослідженні взяли участь вісімнадцять спортсменів – ватерполістів віком 15-16 років. Відбір досліджуваного матеріалу здійснювали після велоергометричного навантаження "Vita maxima" тривалістю 10хв., після занять у басейні протягом однієї години та в останній день виснажливого турніру (тривалість – 7 днів, щоденно відбувалось дві гри).

Статистичне опрацювання одержаних результатів здійснювали з використанням програмного пакета Microsoft Excel, достовірність змін встановлювали за t-парним критерієм Стьюдента.

Як маркери різних типів енергозабезпечення організму спортсмена використовували сечовину (аеробний шлях), молочну кислоту (лактатний анаеробний шлях) та неорганічний фосфат (загальні енергетичні витрати організму).

У результаті проведених досліджень встановлено, що велоергометричне навантаження приводить до збільшення кількості молочної кислоти у сечі спортсмена-ватерполіста, що свідчить про інтенсифікацію лактатного анаеробного шляху енергозабезпечення. Незначне зростання показника неорганічного фосфату вказує на помірні загальні енергетичні зміни в організмі як за велоергометричного навантаження так і за занять у басейні. Відсутність змін у рівні показника сечовини до та після фізичних навантажень вказують на те, що тренувальні заняття дозволяють уникнути спортсмену стрес-реакції.

Після виснажливого турніру у спортсменів спостерігалось підвищення всіх досліджуваних показників енергозабезпечення, що вказує на значні енергетичні витрати. В результаті проведених досліджень запропоновані рекомендації змін у тренувальному процесі з метою посилення алактатного анаеробного та аеробного шляхів енергозабезпечення з метою підвищення працездатності спортсменів.

Коваленко А. О., Овсяннікова Т. М., Забеліна І. А., Кразова Н. С.

**ВПЛИВ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ
НА СТАН ЛАНЦЮГА ПЕРЕНОСУ ЕЛЕКТРОНІВ МІТОХОНДРІЙ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ**

*Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна
майдан Свободи 4, м. Харків, 61022, Україна
e-mail: kovalenko@karazin.ua*

Kovalenko A.O., Ovsyannikova T.M., Zabelina I.A., Krasova N.S. EFFECT OF LOW LASER RADIATION ON THE ELECTRON TRANSPORT CHAIN OF RAT LIVER MITOCHONDRIA. Low laser radiation red band enhances the work of the respiratory chain of rat liver mitochondria, perhaps due to the influence of radiation on the rate of electron transfer through the membrane phase transitions under the influence thermal effects.

Одним із ймовірних механізмів впливу низькоінтенсивного лазерного випромінювання (НЛІВ) на біологічний об'єкт може бути зміна рівня активних форм кисню (АФК) з наступною окиснювальною модифікацією ліпідів і білків клітин. Оскільки одним із основних джерел АФК в клітині є дихальний ланцюг мітохондрій, то саме ця субклітинна структура може розглядатися як первинна мішень біологічної дії НЛІВ та бути зручною моделлю для вивчення процесів апоптозу та способів керування ними. Звісно, що на тлі дії деяких ендогенних та екзогенних факторів (зокрема, цукровий діабет, НЛІВ) активується перекисне окиснення ліпідів у клітинах метаболічно активних органів. Тому, метою даної роботи було вивчити вплив НЛІВ на зміну функціонального стану мітохондрій печінки щурів, які знаходились у різних станах.

Функціональний стан мітохондрій, отриманих методом диференційного центрифугування з печінки білих щурів, був оцінений за показниками швидкості споживання оксигену мітохондріями (за Чансом) – за фосфорилування (V_3) та за його відсутності (V_4), коефіцієнт дихального контролю ($ДК = V_3/V_4$).

Було проведено порівняльний аналіз функціональної активності мітохондрій печінки щурів різних груп. Було виявлено наступні показники. У контролі: V_4 - $14,96 \pm 0,67$ (1 нмоль $O_2 \cdot 1$ мг білка $^{-1} \cdot 1$ хв $^{-1}$); V_3 - $57,52 \pm 4,80$ (1 нмоль $O_2 \cdot 1$ мг білка $^{-1} \cdot 1$ хв $^{-1}$); $ДК (V_3/V_4)$ - $3,85 \pm 0,24$. За умов відносної інсулінової недостатності, що викликали в експерименті за допомогою моделі ЦД 2 типу, V_4 - $13,28 \pm 4,20$ (1 нмоль $O_2 \cdot 1$ мг білка $^{-1} \cdot 1$ хв $^{-1}$); V_3 - $30,01 \pm 4,47$ (1 нмоль $O_2 \cdot 1$ мг білка $^{-1} \cdot 1$ хв $^{-1}$) та $ДК (V_3/V_4)$ - $2,19 \pm 0,12$. Під впливом НІЛВ (632,8 нм): контрольна група - V_4 - $14,24 \pm 0,52$ (1 нмоль $O_2 \cdot 1$ мг білка $^{-1} \cdot 1$ хв $^{-1}$); V_3 - $76,30 \pm 8,31$ (1 нмоль $O_2 \cdot 1$ мг білка $^{-1} \cdot 1$ хв $^{-1}$); $ДК (V_3/V_4)$ - $5,38 \pm 0,77$ та при діабеті, V_4 - $14,81 \pm 0,60$ (1 нмоль $O_2 \cdot 1$ мг білка $^{-1} \cdot 1$ хв $^{-1}$); V_3 - $54,60 \pm 2,74$ (1 нмоль $O_2 \cdot 1$ мг білка $^{-1} \cdot 1$ хв $^{-1}$); $ДК (V_3/V_4)$ - $3,70 \pm 0,31$.

Як показують отримані дані, діабет призводить до ушкодження роботи дихального ланцюга мітохондрій, але НІЛВ нормалізує ці показники. Опромінення контрольних мітохондрій викликає поліпшення роботи дихального ланцюга.

Таким чином, НІЛВ червоного діапазону підсилює роботу дихального ланцюга мітохондрій печінки щурів у різних метаболічних станах, що, можливо, пов'язане з впливом випромінювання на швидкість переносу електронів у ланцюгу за рахунок фазово-мембранних переходів за рахунок, як мінімум, термoeфектів.

Котик О.², Павлова Н.¹, Поліщук А.², Котлярова А.², Марченко С. М.²
ВЛАСТИВОСТІ LCC-КАНАЛІВ ЯДЕРНОЇ МЕМБРАНИ КАРДІОМІОЦИТІВ

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

²Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України

вул. Академіка Богомольця, 4, м. Київ, 01024, Україна

e-mail: annkotliarova@gmail.com

Kotyk O.², Pavlova N.¹, Polishchuk A.², Kotliarova A.², Marchenko S.² THE PROPERTIES OF LCC-CHANNELS IN THE NUCLEAR ENVELOPE OF CARDIOMYOCYTES. The patch-clamp recording from the nuclear envelope of cardiomyocytes revealed the presence of LCC-channels characterised by large conductance (209 ± 13 pS), slow kinetics and high open probability, similar to those, previously reported in neurons. The LCC-channels are permeable to K^+ and Na^+ , but impermeable to Cl^- and Ca^{2+} .

Відомо, що Ca^{2+} -сигнали поширюються не лише в цитозолі, але й у ядрі [Ibarra et al., 2014; Oliveira et al., 2014]. Іони Ca^{2+} можуть не тільки пасивно дифундувати із цитоплазми у ядро через ядерні пори [Ljubojevic et al., 2011], але і надходити через інозитол-1,4,5-трифосфатні рецептори (IP_3Rs) [Marchenko et al., 2005]. Раніше ми описали IP_3Rs , високوپровідні катіонні канали (LCC-канали) та інші іонні канали ядерної мембрани нейронів центральної нервової системи [Marchenko et al., 2005], але експресія іонних каналів може відрізнятися залежно від типу клітин.

Метою нашої роботи було дослідити властивості LCC-каналів ядерної мембрани кардіоміоцитів. Експерименти виконано на щурах ліній Wistar та Fisher віком 2-3 тижні. Ядра кардіоміоцитів виділяли шляхом гомогенізації міокарду і наступного центрифугування отриманої суспензії. Реєстрацію іонних струмів ядерної мембрани здійснювали методом петч-клемп в конфігурації "nucleus-attached" в режимі фіксації потенціалу. Для заповнення камери та піпетки використовували розчин наступного складу (ммоль/л): KCl-150; HEPES-8; HEPES-калієва сіль-12; EGTA-1; рН 7,2. Опрацювання результатів здійснювали з використанням програм Clampfit та Origin.

У ядерній мембрані кардіоміоцитів нами зареєстровано іонні канали з провідністю 209 ± 13 пСм ($n = 44$), які характеризуються повільною динамікою і їх активність значно залежить від потенціалу: при позитивних значеннях потенціалу канали майже весь час перебувають у відкритому стані, а при негативних їх активність різко знижується. Для дослідження селективності зареєстрованих каналів спочатку ми замінювали стандартний розчин у піпетці на (ммоль/л): CaCl_2 –100; HEPES–20; pH 7,2. За таких умов ці канали вдалось зареєструвати лише на негативних значеннях потенціалу, що свідчить про їх непроникність для іонів Ca^{2+} . Для перевірки проникності досліджуваних каналів для інших (крім K^+) моновалентних катіонів, ми замінювали розчин у ванночці на такий, що містив NaCl (замість KCl) цієї ж концентрації. За таких умов струми реєстрували як на позитивних, так і на негативних значеннях потенціалу, що свідчить про низьку селективність зареєстрованого каналу до моновалентних катіонів. При зміні стандартного розчину KCl в піпетці на еквімолярний розчин K-глюканату ми спостерігали струми як вхідного, так і вихідного напрямку. Це стало підставою вважати, що зареєстровані канали є непроникні для іонів Cl^- . За усіма характеристиками ці канали нагадують описані раніше [Marchenko et al., 2005] LCC-канали ядер центральної нервової системи.

Отже, нашими дослідженнями встановлено, що у ядерній мембрані кардіоміоцитів наявні LCC-канали з провідністю 209 ± 13 пСм, котрі проникні для K^+ , Na^+ , але непроникні для Ca^{2+} і Cl^- . При вивільненні Ca^{2+} з внутрішньоклітинних депо позитивно заряджені частинки з люмену переміщуються у цитоплазму. За відсутності протилежно спрямованого потоку позитивно заряджених іонів, мембранний потенціал швидко зміститься до значення кальцієвого рівноважного потенціалу і вивільнення Ca^{2+} з депо припиниться. Ми припускаємо, що зміна потенціалу люмену, що виникає при вивільненні Ca^{2+} , компенсується протилежно спрямованим потоком K^+ через LCC-канали, полегшуючи цим самим подальше вивільнення Ca^{2+} з депо.

Мазур В., Здвіжков Ю., Бура М., Мандзинець С., Заїченко О.¹

**ПЕРОКСИДНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ЗАРОДКІВ В'ЮНА УПРОДОВЖ
ЕМБРІОГЕНЕЗУ ЗА ВПЛИВУ МОДИФІКОВАНОГО ПОЛІЕТИЛЕНГЛІКОЛЮ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: mazurvsevolod@gmail.com*

¹*Національний університет «Львівська політехніка»
пл. Св. Юра, 2, м. Львів, 79013, Україна
e-mail: zaichenk@polynet.lviv.ua*

Mazur V., Zdvizhkov Y., Mandzynets S., Bura M., Zaichenko O. LIPID PEROXIDATION PROCESSES IN THE LOACH EMBRYOS UNDER THE INFLUENCE OF POLYETHYLENE GLYCOL-BASED POLYMERIC CARRIER. The level of lipid peroxidation of novel synthesized antimicrobial biologically active substances – modified by polyethylene glycol were investigated. It was established that the activation of the lipid peroxidation processes during embryogenesis was observed when the polymeric carrier (VEP-GMA-PEG) were added.

Пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) в нормі є життєво важливою ланкою в регуляції багатьох мембранопов'язаних процесів, таких як: проникність і транспорт речовин через мембрану, робота мембраноасоційованих ферментів та ліпідний склад мембран, синтез простагландинів, тромбоксанів, холестеролу. Інтенсифікація ПОЛ може призводити до інактивації мембранних рецепторів, а також ключових ферментів, а саме глюкозо-6-фосфатази, Na/K-АТФази та ферментів дихального ланцюга, що, в результаті, веде клітину до загибелі. Уникнути різноманітних ускладнень можна шляхом своєчасного блокування цього пускового механізму патології, тобто зниженням інтенсивності ПОЛ.

Біологічно активні речовини - є потенційними системами доставки, які можна використовувати у лікуванні ракових захворювань, бактерійних інфекцій та запальних процесів, а також при додаванні до вакцин. Наявність у структурі полімерних носіїв функціональних груп, здатних до іонізації, та/або фрагментів поліетиленгліколю (ПЕГ), здатних взаємодіяти з клітинною мембраною та «маскувати» речовину від імунної системи, робить їх цікавими потенційними кандидатами для систем контрольованої доставки ліків. Тому, детальне дослідження впливу похідних поліетиленгліколю на процеси біологічного окиснення ліпідів мембран зародкових клітин прісноводної риби в'юна *Misgurnus fossilis* L. в період раннього ембріогенезу є актуальним і перспективним, та наблизить до розуміння механізмів біологічної дії цих речовин, допоможе покращити їх лікувальні властивості, що матиме вагоме значення для фармакології та медицини.

Для з'ясування особливостей впливу одного з таких новосинтезованих полімерів ¹VEP-GMA-graft-PEG (10^{-9} M) на процеси біологічного окиснення ліпідів мембран зародків в'юна досліджено зміни рівня ПОЛ на стадіях раннього ембріогенезу. Встановлено, що дія досліджуваного модифікованого ПЕГ впродовж раннього ембріогенезу веде до виражених змін вмісту малонового діальдегіду (МДА) (вторинного продукту ПОЛ). Відомо, що після запліднення відбувається структурна перебудова мембран яйцеклітин. Даний процес супроводжується збільшенням текучості ліпідної фази, через 10 хв відбувається різке її зниження, що свідчить про порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги. Ймовірно саме з цими процесами пов'язано значне зростання рівня МДА (на $101,1 \pm 8,1\%$) порівняно з контролем упродовж першої години розвитку зародків за впливу ПЕГ-носія (10^{-9} M).

На наступних стадіях розвитку зародків виявлено подібне зростання кількості МДА в середовищі, що свідчить про інтенсифікацію ПОЛ на останніх синхронних стадіях поділу бластомерів – в середньому на $77,4 \pm 2,0\%$ у порівнянні з контролем. Суттєве зростання ПОЛ зумовлює значні порушення у клітинному метаболізмі, внаслідок змін мембранної проникності та активації процесів пригнічення іонних транспортних Na/K [Здвіжков, 2013] та Ca систем. Отже, згідно отриманих результатів остаточно не можна стверджувати про доцільність використання цього полімеру в медицині та молекулярній біології.

Попович М., Яремчук М., Дика М.

АКТИВНІСТЬ Na^+ , K^+ -АТФази ЗАРОДКІВ В'ЮНА
ЗА ВПЛИВУ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: popovych.marta@gmail.com

Popovych M., Dyka M., Yaremchuk M. Na^+ , K^+ -ATP-ase ACTIVITY OF LOACH EMBRYOS UNDER THE INFLUENCE OF ELECTROMAGNETIC RADIATION. It has been shown that mobile phone radiation (900 MHz) inhibit the Na^+ , K^+ -ATPase activity during embryogenesis of loach embryos (*Misgurnus fossilis* L.). Using two-factor analysis of variance, the estimation of electromagnetic radiation effect and developmental time on investigated rate during early embryogenesis has been provided.

Актуальним на сьогодні є вивчення впливу електромагнітного випромінювання радіочастотного (ЕМВ) діапазону на живі організми [Friedman J., 2007, Khalil A., 2014]. Маркером негативного впливу ЕМВ на клітину є Na^+ , K^+ -АТФаза – фермент плазматичної мембрани живих тканин.

Встановлено, що ЕМВ призводить до зниження активності Na^+ , K^+ -АТФази впродовж ембріогенезу зародків в'юна [Яремчук М. та ін., 2014]. Метою дослідження було ви-

значення активності Na^+ , K^+ -АТФази у зародках в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) за впливу ЕМВ протягом раннього ембріогенезу.

Як джерело електромагнітних хвиль 900 МГц використовували мобільний телефон Nokia, підключений до українського оператора мобільного зв'язку Київстар. Для оцінки рівня випромінювання використовували потужність поглинутої дози опромінення (Specific Absorption Rate – SAR), який є показником шкідливого впливу ЕМВ мобільних телефонів. Згідно з паспортом телефону, значення SAR становить 1,1 Вт/кг. Отримані зиготи опромінювали одноразово, відразу після запліднення, впродовж 1 хв, 5 хв та 10 хв.

Отримані результати свідчать, що електромагнітне випромінювання на частотах мобільного зв'язку ($\text{SAR} = 1,1$ Вт/кг) тривалістю 1 хв викликає достовірне зниження активності Na^+ , K^+ – активованої АТФази зародків уже на стадії 2 бластомерів. За впливу електромагнітного випромінювання мобільного телефону з $\text{SAR} = 1,1$ Вт/кг активність фермента знижується на 53% щодо контролю; на стадії 16 та 64 бластомерів – на 62%; на стадії 256 бластомерів – на 44%; на стадії 1024 бластомерів – на 63% в порівнянні з контролем.

За електромагнітного випромінювання мобільним телефоном тривалістю 5 хв спостерігали достовірне зниження активності Na^+ , K^+ – АТФази: на стадії 2 бластомерів – на 52%, на стадії 16 бластомерів – на 70% на стадії 64 бластомерів – на 66%, на стадії 256 бластомерів – на 48% та на стадії 1024 бластомерів – на 60% щодо значення активності ферменту в контролі.

За впливу електромагнітного випромінювання, джерелом якого є мобільний телефон ($\text{SAR} = 1,1$ Вт/кг) та тривалістю опромінення 10 хв активність досліджуваного ферменту достовірно зменшується на: 54% – на стадії 2 бластомерів, 70% – на стадії 16 бластомерів, 57% – на стадії 64 бластомерів, 55% – на стадії 256 бластомерів та на 68% щодо контролю.

Для того, щоб з'ясувати вплив факторів стадії розвитку та тривалості опромінення на мінливість активності Na^+ , K^+ – АТФази на різних етапах розвитку зародків в'юна, було проведено двофакторний дисперсійний аналіз із урахуванням контролю. У результаті проведеного аналізу встановлено, що частка впливу електромагнітного випромінювання тривалістю 1 хв на активність досліджуваного ферменту в зародках в'юна становить 77,4 % ($p \geq 0,99$), частка впливу електромагнітного випромінювання тривалістю 5 хв становить 73,4% ($p \geq 0,999$), а вплив електромагнітного випромінювання тривалістю 10 хв становить 71,5% ($p \geq 0,999$).

Петрий С., Гарасим Н., Бішко О., Санагурський Д.
ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ В ЕРИТРОЦИТАХ ЩУРІВ
ЗА ДІЇ ГІСТАМІНУ І ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: golovchak_nataly@ukr.net

Petry S., Harasym N., Bishko O., Sanagursky D. FREE RADICALS PROCESS IN RATS ERYTHROCYTES UNDER THE ACTION OF HISTAMINE AND SODIUM HYPOCHLORITE. Investigated the effect of histamine and sodium hypochlorite on the TBA-reactive substances in erythrocytes of rats. Established that histamine is not causing changes in the content of these in the red blood cells. After the rehabilitation period, the content of TBA-reactive substances increases significantly. The simultaneous effect of histamine and sodium hypochlorite returns the TBA-reactive substances to normal. Watering sodium hypochlorite rats leads to lowering the content of TBA-reactive substances on the fourteenth day of the experiment.

Відомо, що гістамін є одним із медіаторів, який бере участь у регуляції функцій організму, а також відіграє важливу роль у розвитку ряду захворювань. За алергічних станів, де провідну роль відіграє гістамін, спостерігається порушення інтенсивності процесів перок-

сидного окиснення ліпідів (ПОЛ). Нині як антисептик та детоксикант при різних отруєннях організму почали використовувати розчин гіпохлориту натрію (ГХН), який діє не тільки у шлунково-кишковому тракті, а й у крові та тканинах органів, де хімічно зв'язує ксенобіотики [Коцюмбас, 2009]. Відомо, що ГХН незаражують водопровідну воду. Враховуючи те, що гістамін легко окиснюється, а також те, що ГХН може потрапляти в організм з водопровідною водою чи як детоксикант, важливим є вивчення одночасної дії гістаміну і ГХН на прооксидантний стан еритроцитів щурів. Досліди проводили на білих нелінійних щурах. Перша група тварин – контрольна. На протязі 14-ти днів тваринам 2-ї та 3-ї груп вводили розчин гістаміну, концентрацією 1 та 8 мкг/кг, відповідно. Тваринам 4-ї та 5-ї груп, впродовж досліджуваного часу, випоювали розчин ГХН, у концентраціях 5 та 20 мг/л. Крім того, були сформовані ще чотири групи, в яких тваринам одночасно вводили гістамін та розчин ГХН (обох концентрацій). З 14-ї доби по п'ять тварин з кожної групи залишали на реабілітацію. На 1-шу, 7-му та 14-ту та 21-шу доби дослідів, по п'ять тварин з кожної групи декапітували, відбирали зразки крові, а саме еритроцити. В гемолізатах еритроцитів вивчали інтенсивність процесів ліпопероксидації за вмістом ТБК-активних продуктів [Тимирбулатов, 1981].

Отже, гістамін, в концентрації 1 мкг/кг, лише на 1-шу добу дослідів зумовлює пониження вмісту ТБК-активних продуктів, проте вже на двадцять першу добу відбувається значне зростання вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації. Гістамін, у концентрації 8 мкг/кг, не зумовлює достовірних змін вмісту ТБК-активних продуктів впродовж 14-ти діб. Після реабілітаційного періоду у еритроцитах тварин відбувається підвищення вмісту ТБК-активних продуктів. Зростання вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації свідчить про ушкодження ненасичених жирних кислот ліпідів мембран. Поясненням того, чому після припинення введення гістаміну відбувається підвищення показників ТБК-активних продуктів, може бути розвиток в організмі щурів оксидативного стресу за рахунок надмірного надходження кисню до клітин крові та встановленні гіпероксії [Меньшикова, 2006]. За цих умов відбувається активація реакцій процесів ПОЛ. ГХН у концентрації 5 мг/л веде до незначного зростання продуктів ПОЛ на 21% на фоні дії гістаміну в концентрації 8 мкг/кг на 7-му добу дослідів. ГХН у вищій досліджуваній концентрації зумовлює незначне зростання ТБК-активних продуктів на 30% на 1-шу добу дослідів, на тлі дії гістаміну в концентрації 8 мкг/кг та деяке їхнє пониження на 14-ту добу на фоні впливу (на еритроцити) гістаміну в концентрації 1 мкг/кг. Потрібно відмітити, що випоювання щурам ГХН веде до значного пониження вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації у еритроцитах, що ймовірно пов'язано із знешкодженням продуктів ПОЛ цією речовиною за довготривалого її введення в організм, що узгоджується з даними літератури.

Токаренко К., Нипорко О.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕНЕРГЕТИЧНИХ АСПЕКТІВ ВЗАЄМОДІЇ
ТИМІДИН-5'-ТРИФОСФАТУ З РЕПЛІКАЦІЙНИМ КОМПЛЕКСОМ
ДНК-ПОЛІМЕРАЗИ α ВІРУСУ RB69 ЗА ДОПОМОГОЮ
МЕТОДУ ЗОНТИЧНОЇ ВИБІРКИ

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 60, Київ, 01033, Україна
e-mail: katarzyna777@ukr.net*

Tokarenko K., Nyporko A. INVESTIGATION OF ENERGY ASPECTS OF THYMIDINE-5'-TRIPHOSPHATE INTERACTION WITH VIRUS RB69 DNA POLYMERASE α REPLICATION COMPLEX BY UMBRELLA SAMPLING METHOD. The aim of our researches was to study the free energy changes in processes of complementary nucleotide interaction with active center of high-fidelity DNA polymerase. Protein Data Bank, Swiss Param online resources; DS Visualizer, Swiss-PdbViewer and GROMACS software were used in our investiga-

tions. It is shown that the most optimal parameters of pulling for DNA polymerase α virus RB69 replication complex is pulling along xz, yz, and xyz axes. Umbrella sampling calculations showed that nucleotide binding is barrier-free process; free energy difference between unbound and bound states is about 8 kcal/mol.

Результатом процесу взаємодії канонічних дезоксинуклеотидтрифосфатів зі своїми природними клітинними мішенями ДНК-полімеразами може бути або перехід ферментного комплексу з відкритої до закритої форми, або дискримінація нуклеотиду з активного центру. Перехід фермента з відкритої до закритої форми з наступним приєднанням нуклеотиду до зростаючого ланцюга ДНК не є цілком зрозумілим у випадку приєднання до активного центру некомплементарного матриці нуклеотида. У випадку справедливості опису цього процесу існуючими кінетичними моделями будь-який некомплементарний нуклеотид виявляється природним інгібітором ДНК-полімераз, що очевидно не спостерігається в природі.

Вірогідно припустити, що первинна дискримінація некомплементарних нуклеотидів може відбуватися на етапі первинного розпізнавання між нуклеотидом та ферментним комплексом. Необхідно провести дослідження зміни вільної енергії вздовж координати реакції в процесі міграції нуклеотиду з каріоплазми до активного центру фермента. Загальноприйнятим підходом є метод зонтичної вибірки, який дозволяє досить повно описати стани системи і оцінити зміну вільної енергії в процесах асоціації та дисоціації молекулярних комплексів.

Під час експерименту було задіяно наступні веб-ресурси: Protein Data Bank (PDB), Swiss Param; програми: DS Visualizer, Swiss-PdbViewer; програмне забезпечення GROMACS. Для досліді обрали реплікативний комплекс ДНК-полімерази α вірусу RB69, що містить комплементарний нуклеотид тимідин-5'-трифосфат. Дослідження тривало в декілька етапів.

Енергію обраного комплексу мінімізували в умовах, що відповідають внутрішньоклітинним. Врівноважену структуру одержали шляхом розрахунків обмеженої молекулярної динаміки послідовно для NVT та NPT ансамблів. Здійснили процес витягування нуклеотиду. Визначили, що існує 7 можливих напрямків руху нуклеотиду. Найвдаліші результати одержали при пулінгу за координатами: YNY, NYU, YUY. Розрахували дистанції між білком та лігандом. На останньому етапі експерименту побудували графік залежності потенціалу середньої сили від відстані між лігандом та активним центром.

У результаті досліджень було встановлено, що оптимальними параметрами пулінгу для реплікативного комплексу ДНК-полімерази α вірусу RB69 є пулінг вздовж осей: xz, yz та хуz. Розрахунок зонтичної вибірки при пулінгу вздовж осі хуz показав, що процес взаємодії між тимідин-5'-трифосфатом і активним центром ДНК-полімерази є безбар'єрним. Різке падіння вільної енергії відбувається, коли ліганд знаходиться на відстані 2,5 нм від активного центру фермента, а різниця вільної енергії вільного та зв'язаного станів складає величину порядку 8 ккал/моль.

Цуварєв О., Гурін В., Засць В., Корнелюк О.

**ДОСЛІДЖЕННЯ СТРУКТУРНОЇ ТОПОГРАФІЇ ПРОТЕЇНУ AIMP1/P43
ЗА ДОПОМОГОЮ ГАСНИКІВ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ**

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Інститут високих технологій

вул. Володимирська, 64/13, Київ, 01601, Україна

e-mail: a.tsuvariev@gmail.com

Tsuvariev O., Gurin V., Zayets V., Kornelyuk A. INVESTIGATION OF AIMP1/P43 PROTEIN STRUCTURAL TOPOGRAPHY USING FLUORESCENCE QUENCHERS. AIMP1/p43 protein is a component of multisynthetase complex (MARS), whose structure is

not defined completely by experimental methods. Protein purification was carried using affinity chromatography on Ni-NTA-agarose column. The investigation of structural topography was performed using fluorescence spectroscopy technique based on the steady-state quenching of tryptophan fluorescence. It was shown that AIMP1/p43 surface charge is determined mainly by positively-charged amino acids residues.

Протеїн AIMP1/p43 людини (aminoacyl-tRNA synthetases interacting multifunctional protein 1) – важливий еукаріотичний фактор асоціації мультиаміноацил-тРНК синтетазних комплексів. Поза комплексом він проявляє плейотропну цитокінну активність, модулює проліферацію різних типів клітин та здатний пригнічувати неоангіогенез і стимулювати процеси апоптозу та запалення. Такий широкий спектр цитокінної дії обумовлений взаємодією з рядом протеїнів та нуклеїнових кислот, залучених до сигнальних каскадів клітин. AIMP1/p43 складається з N-кінцевого модуля (залишки 1-146), який містить α -спіраль, необхідну для формування високомолекулярного комплексу APCаз, а також лізин-збагаченого кластеру та C-кінцевого модуля (залишки 147-312). Оскільки структура повнорозмірного AIMP1/p43 на даний час залишається невстановленою, то і конкретна фізична природа конформаційних змін та їх внесок у функціональну активність даного цитокіна вивчені недостатньо.

Метою даної роботи є дослідження структурної топографії поверхні протеїну AIMP1/p43 за допомогою гасників флуоресценції, а саме, акриламід, іонів Γ^- та Cs^+ , і встановлення ефективності та характеру гасіння флуоресценції.

Експресію рекомбінантного протеїну AIMP1/p43 проводили в культурі *Escherichia coli* BL21(DE3)pLysE. Очистку рекомбінантного протеїну здійснювали методом метал-хелатуючої хроматографії на колонці з Ni-NTA агарозою. Флуоресцентні вимірювання було проведено за допомогою спектрофлуориметра Hitachi M850 (Японія) на довжині хвилі збудження та емісії 295нм і 332нм відповідно. Для вивчення структурної топографії була використана модель просторової структури AIMP1/p43. Візуалізацію молекулярної поверхні було зроблено за допомогою програмних пакетів PyMol та Chimera.

Результати візуалізації молекулярної поверхні AIMP1/p43 показали, що в межах неструктурованої ділянки протеїну локалізований лізин-збагачений кластер, який разом з найближчим мікрооточенням внутрішнього флуорофору Trp271, представленим також і залишками аргініну, обумовлює низьку ефективність гасіння триптофанової флуоресценції іонами Cs^+ , в порівнянні з іонами Γ^- та акриламідом. Лінійний характер графіків Штерна-Фольмера свідчить про динамічний характер гасіння флуоресценції.

Отримані результати свідчать про доступність Trp271 в структурі AIMP1/p43 молекулам розчинника та значний внесок позитивно заряджених амінокислотних залишків у формування поверхневого заряду молекули даного протеїну.

Шалай Я., Мушкета П., Гренюх В., Мандзинець С., Бабський А.

**ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ
У КЛІТИНАХ ЛІМФОМИ NK/Ly**

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: yarunash@gmail.com

Shalai Y., Mushketa P. Hreniukh V., Mandzynets S., Babsky A. INVESTIGATION LIPID PEROXIDATION IN THE CELL LYMPHOMA NK/Ly. Cancer incidence and mortality are constantly growing, while the tumor resistance to classical treatments is increasing. Thus, searching of novel anticancer drugs which can affect drug-resistant tumor cells is an actual problem. Activity of these drugs depend on the amount of reactive oxygen species in cells. In this

study, we investigated the state of lipid peroxidation in normal and tumor cells as possible target of the chemotherapeutic drugs.

Онкологічні захворювання займають друге місце серед причин смертності населення після серцево-судинних захворювань. Процес розвитку пухлини супроводжується зміною окисно-відновної рівноваги за участю активних форм кисню, що призводить до активації процесу пероксидного окислення ліпідів і антиоксидантної системи [Леус та ін., 2012]. Антиоксидантні властивості препаратів, у тому числі і протипухлинні, можуть відігравати вирішальну роль у кореляції патологічних станів. Доведено, що активність вільнорадикальних процесів і стан системи антиоксидантного захисту в організмі суттєво змінюються за розвитку пухлини.

У зв'язку з актуальністю проблем ракових захворювань пошук нових ефективних ліків не припиняється. Зокрема, такі роботи ведуться на кафедрі органічної хімії Львівського національного університету імені Івана Франка, де синтезують триазолові сполуки, з потенційно протипухлинною активністю. У попередніх дослідженнях на клітинних лініях виявлено, що активність протипухлинних препаратів може залежати від кількості активних форм кисню у клітинах [Фінюк та ін., 2015]. Тому дослідження стану процесів пероксидного окислення ліпідів як у нормі (гепатоцити здорових щурів) так і у ракових клітинах (лімфома у мишей) є актуальною науковою і медичною проблемою.

Досліди виконували на щурах-самцях лінії Wistar масою 200–250 г та мишах-самцях лінії С57 масою 20–30 г. Для екстирпації печінки щурів наркотизували хлороформом, після чого декапітували, робили розтин черевної порожнини і швидко вирізали печінку. Асцитну рідину відбирали з попередньо наркотизованих тварин стерильними інструментами. У відібраних зразках визначали інтенсивність процесів ліпопероксидації за вмістом первинних (гідропероксиди ліпідів) та вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів, які утворюються в реакції з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-позитивні продукти) [Тимирбулатов, Селезнев, 1981].

Відомо, що первинними продуктами ліпопероксидації є гідропероксиди ліпідів, які утворюються внаслідок окиснення активними формами кисню жирно-кислотних залишків. Ми встановили, що рівень гідропероксидів ліпідів у лімфомі за нормальних умов становив – $8,3 \pm 0,6$ ум. од./г лімфому. Дослідили також вміст ТБК-позитивних продуктів (переважно малонового діальдегіду). У гомогенаті лімфому їхня кількість становила $14,4 \pm 0,4$ нмоль/мг білка, а у мембранній фракції гепатоцитів щура – $15,8 \pm 0,6$ нмоль/мг білка. Отже, отримано первинні дані про активність процесів пероксидного окиснення ліпідів у клітинах лімфому та клітинах печінки. Надалі зміни пероксидного окиснення ліпідів будуть вивчені як в нормі, так і за впливу протипухлинних препаратів.

Tarabara U., Trusova V., Vus K.

MOLECULAR DYNAMICS SIMULATIONS OF HUMAN LYSOZYME
AND ITS AMYLOIDOGENIC MUTANTS

*V.N. Karazin Kharkiv National University, School of Physics and Technology
Department of Nuclear and Medical Physics
Svobody Sq. 4, Kharkiv, Ukraine
e-mail: uliasyk@yandex.ua*

A number of human disorders including hereditary systemic nonneuropathic amyloidosis, type II diabetes, Alzheimer's and Parkinson's diseases, etc. are caused by protein misfolding. This so called “conformational diseases” occur because the partially folded intermediates leave pathway of native folding and self-assemble in β -stranded amyloid fibrils [Dobson, 2001]. One of the possible mechanisms of fibrillogenesis involves the amino acid mutation [Moraitakis, 2003].

In the present study we employed the molecular dynamics simulation to gain insight into the role of mutations in the amyloidogenesis of lysozyme, a multifunctional protein with bactericidal, antitumor and immunomodulatory activities. The mutants of human lysozyme (I56T, F57I, W64R, D67H, F57I/T70N) are capable of fibril formation implicated in etiology of familial nonneuropathic systemic amyloidosis, a disease affecting kidney, liver and spleen [Pepys, 1993; Dumoulin, 2005]. To date, the properties of two lysozyme variants, I56T and D67H are most comprehensively characterized. A lower thermodynamic stability and structural cooperativity of these mutants, accounting for their enhanced propensity to adopt a partially unfolded state compared to WT protein, were supposed to be the major molecular determinants of amyloidogenicity (Frare et al., 2004). To further understand the conformational behavior of partially folded lysozyme, we have analyzed 100 ns molecular dynamics of seven lysozyme mutants (I56T, F57I, W64R, D67H, F57I/T70N, EAEA, EAEA-I56T) at high temperature (500 K), thus have induced protein denaturation in a simple way [Brooks, 1997]. The GROMACS suite of programs and Charmm36 force field were used.

At the first step of study, we simulated WT protein at 300 K and found that its structure remains stable, the RMSD did not exceed 0,15 nm, indicating that the force field is reasonable in terms of the protein stability, the results being in agreement with the previous simulations on lysozyme [Kazmirski, 1999; Eleftheriou, 2006]. The native structure of this protein includes α -domain with four α -helices (A-D) and one 3-10 helix and β -domain containing mainly antiparallel β -sheet.

At the next step of the study, the 100 ns simulations at 500 K were performed for WT protein and all examined mutants the prevailing tendency was the destruction of α -helices and β -sheets to coils and turns. The main findings can be summarised as follows:

The destruction time of A-D-helices increases in the rows:

A-helix (residues 5-15): D67H<EAEA<WT<EAEA-I56T<F57I<I56T<F57I/T70N<W64R;

B-helix (residues 25-36): F57I/T70N <EAEA<W64R<WT< EAEA-I56T< F57I< D67H<I56T;

C-helix (residues 89-100): F57I/T70N< D67H<EAEA< EAEA-I56T<WT< I56T< F57I<W64R;

D- helix (residues 110-116): F57I/T70N< D67H, F57I<EAEA< I56T< WT< EAEA-I56T< W64R.

The stability of the main β -structures (B1-B3) follows the order:

B1 (residues 43-46): F57I/T70N<EAEA<WT<D67H< W64R <EAEA-I56T, F57I< I56T;

B2 (residues 51-54): F57I/T70N< EAEA<WT< W64R < EAEA-I56T< I56T< F57I<D67H;

B3 (residues 59-60): F57I/T70N<< EAEA<WT< EAEA-I56T< I56T, W64R< F57I<D67H;

In summary, it can be concluded that the β -sheets of the examined mutants show higher stability than those of WT protein, except for F57I/T70N and EAEA variants. Remarkably, the extent of β -sheet formation during the simulation was similar for WT and mutated proteins. This provides a basis for hypothesis that stability of original β -structures of lysozyme plays an important role in the transition of the protein molecule into amyloidogenic conformation.

БІОХІМІЯ / BIOCHEMISTRY

Ал-Бахадлі Алі Мохаммед М

**ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ТИРЕОЇДНОГО СТАТУСУ
З ТРИВАЛІСТЮ ЖИТТЯ В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

*Харківський національний університет імені В.Н.
Каразіна, майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна
e-mail: al8sh6@mail.ru*

Al-Bahadly Ali Mohammed M. In the study, we used male Wistar rats of different ages – 3, 17, 20 and 31 months. We used different modes of feeding animals. Induced hyperthyroidism can be used as a model of accelerated aging. Induced hyperthyroidism in rats is an epigenetic factor which reduces life expectancy. It is believed that the content of thyroxine in the body induces age-dependent changes.

Відомо, що вміст гормонів щитовидної залози, зокрема, тироксину і трийодтироніну, з віком знижується. Однак не зрозуміло, який процес є провідним – вплив віку на індукцію гормонів щитовидної залози або навпаки, зменшення вмісту тироксину забезпечує старіння організму. Тому, вивчення цього питання – вікове зниження тироксину – причина або наслідок старіння – є важливим для геронтології.

У зв'язку з цим, у лабораторних тварин визначали вміст тироксину на моделях прискореного старіння. У роботі використовували щурів-самців лінії Вістар різного віку - 3, 17, 20 і 31 місяців. Були використані різні режими годування тварин. У одній з експериментальних груп застосовували введення тироксину з питною водою протягом 2-місяців. У роботі використані біохімічні, спектрофотометричні та імуноферментні методи досліджень.

Результати досліджень показали, що переїдання у тварин 3, 20 і 31 місяців викликає зміну співвідношення маси тіла, печінки і серця, підвищення температури тіла, достовірне підвищення концентрації тироксину в крові, збільшення активності NO-синтети в печінці, серці, нирках, і особливо у тканині мозку, а також збільшення прооксидантів і зменшення антиоксидантів, скорочення тривалості життя.

Застосування тироксину протягом 2-х місяців у концентрації 6 мг/л у 17-місячних тварин викликало зменшення тривалості життя, при цьому температура тіла підвищувалася в середньому на 2 °С. При визначенні гормонів щитовидної залози в сироватці крові тварин було виявлено, що вміст трийодтироніну збільшився на 40 %, а тироксину – у два рази. Таким чином, індукований гіпертиреоз може бути використаний як модель прискореного старіння. Крім того, введення тироксину порушувало процеси окисного фосфорилування, що супроводжувалося збільшенням продукції супероксидних радикалів в 1,5 рази. При цьому не змінювалася активність антиоксидантних ферментів – глутатіонпероксидази і мітохондріальної глутатіонредуктази, а активність глутатіон-S-трансферази знизилася в 1,7 рази порівняно з контролем.

Таким чином, індукований гіпертиреоз у щурів є епігеномним фактором, що призводить до зменшення тривалості життя. Можна вважати, що вміст тироксину в організмі індукує вікозалежні зміни.

Алсардіа Мохаммад Моршед Аїед

**ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ
ПРЕПАРАТУ «ФУНГІДОЛ» ПРИ CU-ІНДУКОВАНОМУ ФІБРОЗІ**

*Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна
майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна*

Alsardia Mohammad M. A. STUDY OF «FUNHIDOL» HEPATOPROTECTIVE PROPERTIES ON CU-INDUCED FIBROSIS. We received a biological substance «Funhidol»

from components of *Saccharomyces cerevisiae* and *Pleurotus ostreatus* cells, which has been shown in previous studies has the ability to enhance the activity of the antioxidant system.

Важлива роль оксидативного стресу у виникненні різноманітних патологій та його участь у механізмах адаптації організму не викликає сумніву. Дослідження функцій продуктів вільнорадикальних реакцій є важливим не тільки в розумінні механізмів патогенезу, а й їх ролі в регуляції фізіологічних процесів.

Одним з підходів до вирішення цієї проблеми є використання адекватних біологічних моделей і природних субстанцій, що мають антиоксидантні властивості. Як модель може бути використаний фіброз печінки.

Відомо, що багаторазові послідовні введення сірчаної кислоти міді експериментальним тваринам супроводжувалися розвитком фіброзу печінки, формування якого відбувалося на фоні окисного стресу. Усунення цієї патології є актуальним завданням, і як фактори регуляції, в тому числі і антиоксидантної системи, можна використовувати різні природні джерела антиоксидантних сполук.

Нами була отримана біологічна субстанція «Фунгідол» з компонентів клітин *Saccharomyces cerevisiae* і *Pleurotus ostreatus*, яка, як було показано в попередніх дослідженнях, має здатність посилювати активність антиоксидантної системи.

З огляду на це можна очікувати і усунення морфологічних проявів фіброзу печінки, характерних для цієї патології.

Метою даної роботи було визначити активність глутатіонпероксидази (ГП) в сироватці крові, мітохондріях і цитоплазмі печінки, а також показники функціональної активності і морфології печінки – активність аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази, вміст холестерину, триацилгліцеридів, креатиніну і альбуміну, колагену у тварин з Cu-індукованим фіброзом без і при терапії препаратом «Фунгідол».

Експерименти проводили на статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar, які були розділені на 3 експериментальні групи: 1 – контрольна група, що отримувала *per os* фізіологічний розчин, 2 – група отримувала *per os* CuSO_4 в концентрації 1 мг / 100 г маси тварини; 3 – група з Cu-індукованим фіброзом печінки, яка отримувала *per os* «Фунгідол» у дозі 0,1 мг / 100 г маси тіла через кожні 24 години протягом 72 годин.

Функціональна активність печінки після 3-х послідовних введень сірчаної кислоти міді, не відрізнялася від контролю, навіть на фоні морфологічних змін і збільшення продукції сполучної тканини в печінці, що говорить про розвиток початкових стадій Cu-індукованого фіброзу печінки.

Введення препарату «Фунгідол» тваринам з індукованим фіброзом несуттєво збільшувало активність ГП порівняно з групою тварин з фіброзом. При цьому активність ГП після курсу введення «Фунгідолу» не відрізнялася від інтактного контролю. Аналогічним чином змінювалися і показники функціональної активності печінки. З огляду на відомий стимулюючий вплив препарату на антиоксидантну систему, отримані результати дозволяють стверджувати, що ця біологічно активна субстанція може бути віднесена до потенційних природних антиоксидантів, або регуляторів активності антиоксидантної системи і має гепатопротекторні властивості.

Аль Бегай Мохаммад Алі Юсеф

**ПОКАЗНИКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ І МОРФОЛОГІЇ ПЕЧІНКИ
ЗА ТЕРАПІЇ CU-ІНДУКОВАНОГО ФІБРОЗУ
НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИМИ КОМПОНЕНТАМИ МОЛОЗИВА**

*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна
e-mail: mohammad_boss2020@mail.ru*

**Al Begai Mohammad A. Y. INDICATORS OF FUNCTIONAL LIVER ACTIVITY
AND MORPHOLOGY DURING THE THERAPY OF CU-INDUCED FIBROSIS BY LOW
MOLECULAR COMPONENTS OF COLOSTRUM. Low molecular weight components of**

colostrum activate glutathione peroxidase in case of the Cu-induced fibrosis, accompanied by normalization of lipid hydroperoxides and restoration of physiological parameters in rats.

Як відомо, фіброз печінки індукується різноманітними фізичними і хімічними факторами, лікарськими препаратами, алкоголем. На сьогоднішній день патології печінки складають значну частку серед факторів інвалідизації та смертності, саме тому, розробка засобів і способів усунення цих патологій є актуальним завданням.

Розвиток фіброзу печінки відбувається на фоні оксидативного стресу. Тому пошук різних природних джерел антиоксидантних сполук і розробка на їх основі препаратів, здатних пригнічувати оксидативний стрес, є дуже перспективним напрямком.

Відомо, що молозиво має унікальний склад різноманітних біологічно активних сполук і використовується при лікуванні широкого спектру захворювань різної етіології. У даній роботі була поставлена мета дослідити можливість гальмування або усунення розвитку фіброзу печінки низькомолекулярними компонентами коров'ячого молозива (НKM).

Гепатопротекторні можливості НКМ оцінювали за активністю глутатіонпероксидази (ГП) в сироватці крові, мітохондріях і цитоплазмі печінки, а також показниками функціональної активності і морфології печінки – активності аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази, вмісту холестерину, триацилгліцеридів, креатиніну, альбуміну і колагену у тварин з Cu-індукованим фіброзом.

Для отримання НКМ, які використовувалися в цьому дослідженні, з молозива були видалені ліпіди і високомолекулярні білки.

Експерименти проводили на статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar віком 3 міс., які були розділені на 3 експериментальні групи: 1 – контрольна група, що отримувала *per os* фізіологічний розчин, 2 – група, що отримувала *per os* CuSO_4 в концентрації 1 мг / 100г маси тварини; 3 – група з Cu-індукованим фіброзом печінки, яка отримувала *per os* НКМ в дозі 0,1 мг / 100 г маси тіла через кожні 24 години протягом 72 годин.

Введення CuSO_4 у зазначеній концентрації призводило до розвитку ранніх стадій фіброзу у тварин, про що свідчить відсутність змін показників функціональної активності печінки порівняно з контролем на тлі морфологічних змін і збільшення продукції сполучної тканини в печінці. Введення НКМ тваринам з Cu-індукованим фіброзом збільшувало активність ГП, яка після курсу введення НКМ не відрізнялася від інтактних тварин.

Курс введення НКМ також сприяв відновленню до інтактних значень показників функціональної активності і морфології печінки, що говорить про гепатопротекторні властивості НКМ, принаймні, для усунення структурно-функціональних порушень печінки на ранніх стадіях фіброзу.

Отримані дані також дозволяють говорити про те, що низькомолекулярні компоненти молозива є перспективними речовинами в розробці природних систем регуляції активності печінки при запальних і фібротичних процесах.

Бородіна Н.¹, Нікітченко І.¹, Нікітченко Ю.²

**ВПЛИВ НЕЗБАЛАНСОВАНОЇ ЗА ВМІСТОМ ТВАРИННИХ БІЛКІВ
І ВІТАМІНІВ ДІЄТИ НА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ
БАЛАНС МІТОХОНДРІЙ СТАРИХ ЩУРІВ**

¹Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
майдан Свободи 4, м. Харків, 61022, Україна

²НДІ біології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна
майдан Свободи 4, м. Харків, 61022, Україна

**Borodina N., Nikitchenko I., Nikitchenko Yu. THE EFFECT OF AN UNBALANCED
IN ANIMAL PROTEINS AND VITAMINS DIET ON THE PROOXIDANT-ANTIOXIDANT
BALANCE OF OLD RAT MITOCHONDRIA.** It was found that under the unbalanced diet the
content of lipid hydroperoxides increased and the activity of glutaredoxins and glutathione per-
oxidases decreased in the liver mitochondria of old rats.

У теперішній час однією з фундаментальних теорій старіння, що найбільш плідно розвивається, є вільнорадикальна теорія, згідно якої старіння людини і тварин пов'язане з порушенням прооксидантно-антиоксидантного балансу, що викликане збільшенням у тканинах вмісту продуктів вільнорадикального окислення і зниженням активності антиоксидантних ферментів. Ефективним підходом до вивчення механізмів старіння є використання різних моделей, що дозволяють збільшити тривалість життя лабораторних тварин [Gems D., 2008] чи навпаки – зменшити її [Фролькіс В. В., 1992, Степанов Ю. М., 2004]. Однією з моделей прискореного старіння є незбалансована за вмістом тваринних білків і вітамінів антиоксидантного ряду дієта (НД). Раніше було встановлено істотне зниження активності більшості ферментів антиоксидантної системи (в основному за рахунок зниження активності глутатіонпероксидаз) в різних субклітинних фракціях печінки молодих статевозрілих (3-міс.) щурів, які тривалий час утримувались на такій дієті [Никитченко Ю. В., 2012]. У ході іншого експерименту показано, що переведення старих тварин на НД призводить до зниження їх виживання [Никитченко Ю. В., 2012]. У зв'язку з цим метою роботи було дослідження впливу НД на активність GSH – залежних антиоксидантних ферментів, як ключової ланки в регуляції тривалості життя [Никитченко Ю. В., 2009].

Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Вістар 18-місячного віку, які були розділені на 2 групи: контрольні тварини (група 1) утримувались впродовж 60 днів на стандартному раціоні харчування віварію, піддослідні тварини (група 2) – на незбалансованому за вмістом тваринних білків і вітамінів антиоксидантного ряду раціоні. Незбалансований раціон характеризувався пониженим вмістом жирів (на 26,0 %), протеїнів (на 35,7 %), вітаміну Е (на 36,8%) і ряду амінокислот [Попович А. С., 2009]. Мітохондрії виділяли методом диференціального центрифугування з гомогенату печінки. Активність глутатіонпероксидаз (GPx), глутаредоксинів (Grx) і вміст гідроперекисів ліпідів (ГПЛ) визначали спектрофотометричними методами [Ohkawa H., 1979, Paglia D. E., 1967, Raghavachari N, 1996].

Встановлено, що утримання тварин впродовж 60 днів на НД викликає збільшення вмісту ГПЛ в мітохондріях на 45,3% в порівнянні з контрольними тваринами. При дослідженні активності Se-залежної GPx, основного ферменту, який утилізує ГПЛ в мітохондріях, встановлено, що застосування НД призводить до зниження активності цього ферменту на 27,5%. Окрім Se-залежної GPx в мітохондріях утилізацію ГПЛ можуть здійснювати Grx, які відносяться до суперсімейства тиоредоксинів. Активність Grx в мітохондріях щурів, що утримувались на НД, зменшилась на 42,6 %. У відповідь на НД коефіцієнт надійності антиоксидантної системи, який розраховується як відношення добутку активності GPx і Grx до вмісту ГПЛ, знизився в 3,5 рази.

Отримані результати свідчать, що НД призводить до порушення прооксидантно-антиоксидантного балансу мітохондрій печінки старих щурів, що може бути одним з провідних чинників, які викликають зниження виживання старих тварин.

Василакі А., Гладун Д., Ракша Н.

**ВИДІЛЕННЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ТРИПСИНОПОДІБНОГО ФЕРМЕНТУ
З АНТАРКТИЧНОГО МОРСЬКОГО ГРЕБІНЦЯ *ADAMUSSIUM COLBECKI***

*Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини»
Київського національного університету імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, 01601, Україна
e-mail: anastasiavasylaki@gmail.com*

**Vasylaki A., Hladun D., Raksha N. EXTRACTION AND CHARACTERIZATION OF
TRYPSIN-LIKE ENZYME FROM ANTARCTIC SCALLOP *ADAMUSSIUM COLBECKI*.** Trypsin-like enzyme from *A. colbecki* was purified and partly characterized. Based on obtained results

we could suggest that isolated enzyme was member of the trypsin family of serine proteases. This conclusion can be drawn from the corresponding molecular weight, specificity for the trypsin-specific synthetic substrate BApNA and inhibition by well-known trypsin inhibitor such as PMSF.

Посилення тенденцій щодо використання продукції, активною діючою складовою якої є гідролітичні ферменти, обумовлює актуальність пошуку нових, економічно обґрунтованих природних джерел сировини для одержання цільових ферментів. З цих позицій виключно перспективним об'єктом видаються морські гідробіонти Антарктичного регіону. Обґрунтованість їх використання визначається не лише значною сировинною базою та високим відновлювальним потенціалом, а й структурно-функціональними особливостями ферментів з організмів, адаптованих до низьких температур. Дані ферменти можуть ефективно каталізувати реакції за умов понижених температур, що відкриває широкі можливості їх практичного застосування. До ферментів, що активно використовуються в різних галузях промисловості та медицини належать трипсини, які на сьогодні одержують переважно з наземних теплокровних. Проте використання морських гідробіонтів як джерела сировини білкового походження можна вважати більш доцільним з огляду відсутності так званих «споживчих ризиків» - хвороб «коров'ячого сказу», «ящуру», «пташиного грипу», а також контамінації вірусами, пріонами та іншими інфекційними агентами, властивими сировині тваринного походження.

Зважаючи на вищевикладене, метою роботи було виділити та охарактеризувати трипсиноподібний фермент з антарктичного морського гребінця *Adamussium colbecki*. Виділення ферменту із загального екстракту тканин *A. colbecki* включало декілька хроматографічних стадій, зокрема, афінну хроматографію на колонці з SBTI-сефарозою. Застосування як ліганд соєвого інгібітора трипсинів дозволило одержати фракцію збагачену трипсиноподібними ферментами різної молекулярної маси. Подальша її очистка шляхом хроматографії, що поділяє за розмірами на носіїві Superdex 75-PG дозволила одержати дві фракції, які були протестовані на наявність ферментативної активності методом ензим-електрофорезу із застосуванням в якості субстрату желатину. Проведеним аналізом показано наявність ферментативної активності лише у другій фракції з чітко вираженою зоною гідролізу в області, що відповідає 23-24 кДа. Гомогенність одержаного ферменту була підтверджена результатами диск-електрофорезу у поліакриламідному гелі за наявності додецилсульфату натрію. Як додаткове підтвердження трипсиноподібної природи виділеного ферменту було визначено активність щодо хромогенного синтетичного субстрату *N*- α -бензоіл-DL-Arg-*p*-нітроанілід (BApNA), специфічного саме для даної групи ферментів. Дослідження впливу інгібіторів метало- та серинових протеїназ EDTA та PMSF на активність виділеного ферменту показало, що 2 мМ PMSF на 50 % інгібував ферментативну активність, в той час як при застосуванні 5 мМ EDTA інгібуючого ефекту виявлено не було. Таким чином, результати інгібіторного аналізу свідчать про належність ферменту саме до групи серинових протеїназ.

Василюк Д., Ракша Н.

**ЕКСТРАКЦІЯ КОЛАГЕНУ З ЛУСКИ РИБ
ТА ОДЕРЖАННЯ ЙОГО НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ФРАГМЕНТІВ**

Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини»
Київського національного університету імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, 01601, Україна
e-mail: dianadiana16@i.ua

Vasyliuk D., Raksha N. EXTRACTION OF COLLAGEN FROM THE FISH SCALES AND OBTAINING ITS LOW-MOLECULAR-WEIGHT FRAGMENTS. A simple method for the isolation of collagen from the fish scales has been applied. The results of sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis confirmed the purity of extracted collagen and showed that ob-

tained collagen was composed of two different α -chains ($\alpha 1$ and $\alpha 2$). Next, collagen samples were hydrolyzed with pepsin at 37 °C for 24 h. According to obtained results, collagen was cleaved into low-molecular-weight fragments and peptides with a molecular weight ranging from 26 to 2 kDa.

Колаген та препарати на його основі знаходять широке застосування у різних сферах людської діяльності, зокрема, у медицині, біотехнології, косметичній та харчовій промисловостях. Сукупність експериментальних даних щодо широкого спектру їх біологічної активності, безпечності при довготривалому застосуванні та певних терапевтичних ефектах навіть за незначних доз обумовлює перспективи використання фрагментів колагену для створення засобів профілактично-лікувальної дії на розвиток системних захворювань, обумовлених метаболічними порушеннями. Тому, зростання попиту на використання продукції на основі колагену актуалізує пошук нових джерел сировини. На сьогодні при переробці промислових видів риб від 30 до 70 % від їх загальної маси становлять відходи, які зазвичай викидаються, що призводить не лише до втрати значної кількості потенційно цінної сировини, а й до забруднення навколишнього середовища. З огляду на те, що луска риб містить до 30% колагену, належить до відходів рибної промисловості, а отже є доволі необмежним ресурсом низької вартості та містить менше домішок у порівнянні з традиційними джерелами колагену, тому саме луску риб було використано як сировину для екстракції колагену.

Порівнявши ряд методик екстракції колагену з різними етапами попередньої обробки сировини з метою відділення неколагенових білків та кислих протеогліканів, ми обрали кислотну екстракцію із застосуванням оцтової кислоти. Власне екстракцію колагену із сухої луски проводили з використанням 0,5 М оцтової кислоти із додавання 5 мМ EDTA з розрахунку 1:10 (маса:об'єм) впродовж 24 годин. Висолювання колагену здійснювали шляхом додавання до одержаних розчинів NaCl до кінцевої концентрації 0,9 М. У результаті проведених досліджень було оптимізовано метод екстракції колагену з луски риб, що дозволило скоротити час його одержання до трьох днів та не вплинуло на кінцевий вихід продукту. Чистоту екстрагованого колагену перевіряли методом диск-електрофорезу у 6 % поліакриламідному гелі. Відповідно до одержаних результатів виділений нами колаген не містив ніяких сторонніх домішок та неколагенових білків. Присутність в аналізованих зразках 117 та 107 кДа фрагментів, що відповідають молекулярним масам $\alpha 1$ - та $\alpha 2$ -ланцюгів колагену I типу дозволяє говорити про належність екстрагованого колагену саме до даного типу. Додатковим підтвердженням цього слугує присутність ідентифікованих α -ланцюгів у співвідношенні 2:1 ($\alpha 1$: $\alpha 2$). Наступним нашим завданням було одержати фракцію низькомолекулярних фрагментів колагену. Зважаючи на необхідність одержання фрагментів зі збереженням їх біологічної активності, найоптимальнішим видався метод ферментативного гідролізу. Гідролітичне розщеплення колагену було проведено з використанням пепсину. Ступінь гідролізу оцінювали методом диск електрофорезу у 18 % поліакриламідному гелі відбираючи аліквоти для аналізу через різні часові проміжки та порівнюючи їх склад з вихідним зразком колагену. У результаті було встановлено, що через 24 год інкубації з пепсином молекула колагену розщеплювалася на ряд низькомолекулярних фрагментів у діапазоні молекулярних мас від 2 до 26 кДа.

Галкін О., Мінченко Д., Ратушна О., Мінченко О.

**ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ СПЕЦИФІЧНИХ ДО УБІКВІТИНУ ПЕПТИДАЗ У КЛІТИНАХ
ГЛІОМИ ЛІНІЇ U87 З ПРИГНІЧЕНИМ IRE1 ЗА УМОВ ДЕФІЦИТУ ГЛЮКОЗИ**

*Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна Національної академії наук України
вул. Леонтовича, 9, Київ, 01601, Україна
e-mail: oleggal2014@gmail.com*

Halkin O., Minchenko D., Ratushna O., Minchenko O. EXPRESSION OF UBIQUITIN SPECIFIC PEPTIDASE GENES IN IRE1 KNOCKDOWN U87 GLIOMA CELLS UPON GLUCOSE DEPRIVATION. We have studied the effect of glucose deprivation on the expression of genes

encoding for ubiquitin-specific peptidases (*USP*) in U87 glioma cells in relation to inhibition of inositol requiring enzyme-1 (IRE1). It was shown that glucose deprivation is down-regulated the expression of *USP1* and *USP10* genes and up-regulated *USP4* and *USP25* genes in control (transfected with empty vector) glioma cells. At the same time, the expression level of *USP14* and *USP22* genes in these cells did not significantly change upon glucose deprivation condition. Inhibition of IRE1 signaling enzyme function in U87 glioma cells modified the effect of glucose deprivation on the expression of most studied genes. Therefore, glucose deprivation affects the expression level of most ubiquitin-specific peptidases genes in relation to the functional activity of the IRE1 enzyme, which controls cell proliferation and tumor growth as a central mediator of endoplasmic reticulum stress.

Протеази є важливою складовою частиною складних регуляторних каскадів клітин і впливають на сигнальну мережу клітин, яка відіграє надзвичайно важливу роль в динамічних механізмах регуляції біохімічних процесів як у нормі, так і за різних патологічних станів, а також за дії на організм різноманітних чинників. У живих системах підтримується баланс між протеазами та їх інгібіторами, і порушення цієї рівноваги призводить до розвитку багатьох хвороб, у тому числі злоякісних пухлин. У цьому плані вивчення ролі ключових протеаз та процесів, які вони контролюють, є важливим для розуміння молекулярних механізмів розвитку онкологічних захворювань.

Е3 убіквітинлігази і деубіквітинази відіграють важливу роль за розвитку онкологічних захворювань. Убіквітин є високо консервативним протеїном, який бере участь у регуляції внутрішньоклітинної деградації протеїнів, регуляції клітинного циклу, ремоделюванні хроматину, а також здійсненні реакції на клітинний стрес. Він вивільняється із деградованих протеїнів шляхом розбирання поліубіквітинових ланцюгів, що опосередковується убіквітин-специфічними протеазами, роллю яких є деубіквітування протеїнів.

Інгібування сигнального ензиму IRE1 (inositol requiring enzyme-1), основного компоненту сигналіну за умов стресу ендоплазматичного ретикула, значно знижує рівень проліферації клітин гліоми і росту злоякісних пухлин.

Метою роботи було дослідити експресію генів низки протеаз USP (ubiquitin specific peptidase) у клітинах гліоми лінії U87 за умов дефіциту глюкози та пригнічення функцій сенсорно-сигнального ензиму IRE1 для того, щоб з'ясувати роль цих генів у пригніченні пухлинної проліферації клітин.

Було показано, що рівні експресії генів *USP1* і *USP10* знижуються на 27 % та 19 % відповідно у контрольних (модифікованих пустим вектором) клітинах гліоми. Проте, для генів *USP4* та *USP25* було відзначено підвищення рівня експресії (на 25 % і 41 % відповідно). Для генів *USP14* та *USP22* рівень експресії у цих клітинах істотно не змінюється. Інгібування функцій сенсорно-сигнального ензиму IRE1 у клітинах гліоми модифікує ефект дефіциту глюкози на експресію більшості досліджених генів.

Отже, дефіцит глюкози змінює рівень експресії більшості генів специфічних до убіквітину протеаз в залежності від функціональної активності ензиму IRE1, який контролює процеси проліферації та росту пухлин як центральний медіатор стресу ендоплазматичного ретикула.

Герцик Д., Сабадашка М., Сибірна Н.

**ВПЛИВ КОНЦЕНТРАТУ ПРИРОДНОГО ПОЛІФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ
З ЧЕРВОНОГО ВИНОГРАДНОГО ВИНА НА СИСТЕМУ ЕРИТРОНУ
ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна
e-mail: daryna.hertsyk@gmail.com

**Hertsyk D., Sabadashka M., Sybirna N. EFFECT OF RED WINE POLYPHENOLIC
COMPLEX CONCENTRATE ON ERYTHRON SYSTEM UNDER EXPERIMENTAL DIA-**

BETES MELLITUS. We have analyzed the number of red blood cells, reticulocytes, contents of hemoglobin, separately its alkali-stable and temperature tolerant forms. We compared samples of blood from healthy rats and from animals with experimental streptozotocin-induced diabetes. Hemoglobin concentration was investigated by the standard cyanmethemoglobin method and the number of erythrocytes was counted with help of hemocytometer. The analysis of results showed that concentrate of polyphenols adjusts diabetes-induced abnormalities that are related to morphological and functional disorders of red blood cells.

До числа найбільш поширених захворювань людини належить цукровий діабет, 10–15 % усіх хворих на діабет – це люди з діабетом 1 типу. На Землі ним хворіють приблизно 20 млн. переважно молодих людей. Інсулінова недостатність, що виникає при цукровому діабеті, призводить до метаболічних порушень, які ускладнюють функціонування систем підтримки гомеостазу, важливою складовою якого є система еритрону периферичної крові.

Цукровий діабет призводить до фізичних, біохімічних і морфо-функціональних змін властивостей еритроцитів. Також встановлено, що зміни в системі еритропу у разі цукрового діабету виявляються в посиленні еритропу (швидкість дозрівання та виходу ретикулоцитів з кісткового мозку в кров'яне русло зростає) та підвищенні вмісту фетального гемоглобіну, що є захисною реакцією організму на розвиток тканинної гіпоксії за даної патології.

Тому важливими є дослідження впливу різних сполук, таких як поліфеноли, на зміни в організмі, зокрема, основних показників крові. Поліфенольні сполуки здатні поглинати вільні радикали і тим самим запобігати продовженню надзвичайно небезпечних для живих організмів ланцюгових реакцій. У свою чергу, їхня розчинність у воді та ліпідах робить їх добрими сорбентами супероксидних і гідроксильних радикалів у водних розчинах.

Нами досліджено кількість еритроцитів, ретикулоцитів, вміст гемоглобіну, зокрема, його лужностійкої і термолабільної форми, в зразках крові здорових щурів та тварин з експериментальним стрептозоточиновим діабетом при введенні концентрату природного поліфенольного комплексу з червоного виноградного вина. Аналіз результатів засвідчує коригування діабет-індукованих порушень показників, що характеризують морфологічний та функціональний стан еритроцитів.

Отже, для профілактики та лікування діабету 1 типу можна рекомендувати споживати продукти, які містять велику кількість поліфенольних сполук, оскільки ці сполуки впливають на велику кількість біохімічних процесів у організмі, зокрема покращують стан системи еритропу, та, як наслідок, кисень-транспортну функцію червоних кров'яних тілець.

Головацька І., Канюка О., Нагалєвська М., Сабадашка М., Сибірна Н.

ВПЛИВ АНТОЦІАНІДИНІВ КАПУСТИ
ЧЕРВОНОКАЧАННОЇ (*BRASSICA OLERACEA* L.)
НА ПРОЦЕС АПОПТОЗУ ЛЕЙКОЦИТІВ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ ЩУРІВ
ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1-ГО ТИПУ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна
e-mail: irinagolovatska@i.ua

Holovatska I., Kanyuka O., Nagalievskaya M., Sabadashka M., Sybirna N. INFLUENCE OF RED CABBAGE ANTHOCYANIDINS (*BRASSICA OLERACEA* L.) ON THE APOPTOSIS IN RATS LEUKOCYTES UNDER EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS. It was shown that anthocyanidins from red cabbage leads to normalization of expression of p53 and Bcl-2, which testifies the normalization influence of anthocyanidins from red cabbage on genetically

programmed cell death. Also, it was found that the level of fragmented DNA increased under diabetes mellitus comparing to the same signification in non-diabetic conditions. It can attest about a higher level of cell death under pathological conditions, as a result of oxidative and enzymatic damage mechanisms.

Запрограмована загибель клітини (апоптоз) посідає важливе місце в імунній відповіді організму при селекції, регуляції чисельності та елімінації відпрацьованих, пошкоджених та неспецифічно активованих клітин крові. Апоптоз імунокомпетентних клітин крові заслуговує поглибленого вивчення через його важливу роль у підтримці нормального функціонування імунної системи в нормі та за різноманітних захворювань, в тому числі – цукрового діабету. Поряд з цим, значної уваги заслуговує пошук нових потенційних джерел одержання лікарських препаратів, які б позитивно впливали на життєздатність імунокомпетентних клітин. До лікарських рослин з цукрознижувальною дією, що потенційно можуть регулювати імунологічний статус хворих на цукровий діабет належать капуста червонокочанна (*Brassica oleracea*).

Метою роботи було дослідити вплив антоціанідинів капусти червонокочанної на процеси апоптозу лейкоцитів периферичної крові щурів за умов експериментального цукрового діабету (ЕЦД) 1-го типу.

Оцінюючи процеси апоптозу за морфологічними ознаками встановлено, що у щурів з ЕЦД збільшується апоптичний індекс порівняно з контролем, тоді як при введенні антоціанідинів капусти червонокочанної щурам з ЕЦД апоптичний індекс знижується. Імуноцитохімічним методом було встановлено, що у разі цукрового діабету в лейкоцитах крові щурів підвищується відсоток клітин, що містять білки, які регулюють апоптоз – p53 та Bcl-2. Таким чином, дія антоціанідинів капусти червонокочанної за умов цукрового діабету спрямована на нормалізацію співвідношення лейкоцитів, зокрема підвищення кількості клітин з вмістом білка p53 та зменшення рівня клітин з білком Bcl-2, що свідчить про нормалізацію процесу апоптозу за досліджуваної патології. Також було досліджено ступінь пошкодження ДНК лейкоцитів і встановлено, що при введенні антоціанідинів вміст інтактної ДНК збільшився, а вміст фрагментованої ДНК зменшився, порівняно з даними за умов ЕЦД.

Отже, виявлені зміни вказують на підвищення рівня ушкодження ДНК лейкоцитів периферичної крові за умов цукрового діабету та про інтенсифікацію загибелі цих клітин за механізмом апоптозу. Застосування антоціанідинів капусти червонокочанної призводить до нормалізації експресії білків-регуляторів апоптозу, зменшення апоптичного індексу і рівня пошкодження ДНК, а це свідчить про нормалізуючий вплив досліджуваних сполук на генетично запрограмовану загибель клітини.

Дахнова Д., Бараннік Т.

ТЕОРЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ПОТЕНЦІЙНИХ ГЕМ-ЗВ'ЯЗУВАЛЬНИХ САЙТІВ БІЛКУ TXNIP ТА КОМПЛЕКСУ TXNIP І ТІОРЕДОКСИНУ ЛЮДИНИ

*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна
e-mail: tbarannik@karazin.ua*

Dachnova D., Barannik T. THEORETICAL ANALYSIS OF POTENTIAL HEME-BINDING SITES OF TXNIP PROTEIN AND OF THE COMPLEX OF HUMAN TXNIP AND THIOREDOXIN. Molecular docking studies of the protein models revealed that potential heme binding sites did not coincide with the sites of interaction with thioredoxin. Heme docking to the complex of two proteins showed that TXNIP provided preferable sites for heme binding than thioredoxin. Multiple alignments showed conservation of these sites of TXNIP in mammals.

Білок TXNIP експресується у всіх клітинах ссавців і вважається медіатором оксидативного стресу. TXNIP безпосередньо взаємодіє з тіоредоксином, інгібуючи його редук-

тазну активність, регулює експресію тіоредоксину. Крім того, TXNIP виступає важливим регулятором розвитку гемопоетичних стовбурових клітин [Jung, 2016] і регулятором метаболізму глюкози і ліпідів [Alhawiti, 2017]. Встановлено взаємозв'язок білка TXNIP з p38 MAPK та ERK сигнальними шляхами [Li, 2014]. Комплекс TXNIP з тіоредоксином розглядається як редокс-чутливий сигнальний комплекс й ключовий компонент взаємозв'язку редокс-регуляції та патогенезу захворювань [Yoshihara, 2014].

Вільний гем володіє прооксидантними властивостями й через гем-чутливі сайти здійснює регуляторний вплив на клітинні процеси, у тому числі експресію генів, деградацію білків, клітинний цикл, розвиток гемолітичних станів [Roumenina, 2016]. Прямий вплив накопичення вільного гему в умовах оксидативного стресу на структуру та активність TXNIP досі не досліджений, тому метою нашої роботи став теоретичний аналіз взаємодії молекули гему з білком TXNIP та його комплексом з тіоредоксином на прикладі білків людини.

Амінокислотні послідовності білка TXNIP людини (Q9H3M7) та гомологічних білків були завантажені з серверу UniProt (<http://www.uniprot.org/>). Множинне вирівнювання було проведено в програмі Clustal Omega (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>). Просторові структури білків отримані з бази PDB (<http://www.rcsb.org/>). Візуалізація та аналіз структур проводились у програмі SwissProt viewer 4.1.0. Молекулярний докінг з гемом проведений на сервері PatchDock (<https://bioinfo3d.cs.tau.ac.il/PatchDock/>). Структуру гему отримано з бази даних PubChem (<http://www.ebi.ac.uk/pdbe-srv/pdbechem/chemicalCompound/show/HEM>).

Докінг гему до мономеру TXNIP (PDB ID 4LL1:A) і до комплексу димеру TXNIP і двох молекул тіоредоксину (4LL1) виявив загальні сайти зв'язування гему у ділянці TXNIP 75-100 (Leu76; Leu77; Leu78; Glu79; Asp80; Lys100). Ділянки утворення комплексу тіоредоксину з білком TXNIP (His198-Thr204, Asn240-Ser249, Arg251) не збігаються з ймовірними ділянками зв'язування з гемом. Таким чином, можна припустити, що зв'язування гему не перешкоджає утворенню даного комплексу. Згідно результатів докінгу тіоредоксин, будучи у складі комплексу, є менш ймовірним сайтом зв'язування гему, ніж TXNIP. Множинне вирівнювання показало високу ідентичність (86,43%) послідовності TXNIP у ссавців, при цьому потенційні гем-зв'язувальні сайти також є висококонсервативними.

Таким чином, зв'язування вільного гему з білком TXNIP, що бере участь у редокс-сигналінгу, може бути одним з механізмів регуляторного впливу гему на клітинні процеси.

Довбань О., Муравйова Д., Ушакова Г.

**ЗМІНИ ВМІСТУ НЕЙРОНАЛЬНИХ МОЛЕКУЛ КЛІТИННОЇ АДГЕЗІЇ
ЗА УМОВ ВОДНО-ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ**

*Дніпропетровський національний університет ім. О. Гончара
пр. Гагаріна, 72, м. Дніпро, 49010, Україна
e-mail: dovbanelena@gmail.com*

Dovban O., Muraviova D., Ushakova G. CONTENT CHANGES OF NEURAL CELL ADHESION MOLECULES UNDER WATER-IMMOBILIZATION STRESS. Changes of cytoplasmic and membrane NCAM content and influence of α -ketoglutarate were determined in different areas of the brain under water-immobilization stress in rats. The correlation between obtained data of NCAM content and physiological activity was shown depending on the different part of the brain. The use of α -ketoglutarate after the induction of stress leads to the normalization of metabolism of studied proteins.

Стрес є одним із поширених етіологічних факторів індукції захворювань, у тому числі порушення функціонування центральної нервової системи. Ключовими білками, зміна вмісту яких суттєво впливає на нейрональну активність є нейрональні молекули клітинної адгезії (НМКА), які відповідають за міжклітинну адгезію аксонів, впливають на зміну синаптичної пластичності нервових клітин та беруть участь у процесах навчання та пам'яті.

Метою цієї роботи було дослідити зміни вмісту НМКА за умов водно-імобілізаційного стресу та при введенні α -кетоглутарату.

У роботі використовували мозок 18 щурів, які були поділені на 3 групи ($n=6$): 1 група – контрольна; 2 група – щурі з водно-імобілізаційним стресом (ВІС); 3 група – після моделювання стресу тварини отримували протягом 14 діб з питною водою α -кетоглутарат (α -КГ) у дозі 0,8 г/кг ваги. ВІС моделювали витриманням і зануренням у воду різної температури щурів у клітках-пеналах протягом трьох діб: 1, 2 – витримання у клітках протягом години, занурювання у клітках у воду з температурою 23 °С. Метою роботи було з'ясувати вплив БФЕКЛ на показники, що характеризують ступінь розвитку оксидативного стресу в клітинах підшлункової залози щурів у нормі та за умов експериментального цукрового діабету (ЕЦД).

ЕЦД індукували внутрішньочеревним введенням стрептозотоцину з розрахунку 5,5 мг (у 10 мМ цитратному буфері, pH 5,5) на 100 г маси тіла тварини. Через два тижні після індукції ЦД, тваринам раз на добу *per os* вводили БФЕКЛ у вигляді водної емульсії (у дозі 0,6 г на 1 кг маси тіла тварини, в об'ємі 1 мл води впродовж 14 діб). Отримання БФЕКЛ та аналіз її компонентного складу описано у роботах [Хохла М. та ін., 2013; Сибірна Н. та ін., 2015]. Вміст ТБК-позитивних продуктів визначали згідно методики [Тимирбулатов Р., 1981], активність супероксиддисмутази (СОД) (КФ 1.15.1.1) – [Чевари С. и др., 1991], каталази (КФ 1.11.1.6) – [Королюк М. и др., 1988], глутатіонпероксидази (ГПО) (КФ 1.11.1.9) – [Моин В., 1986].

Аналіз отриманих результатів показав зниження вмісту відновленого глутатіону (на 59,92 %) та активності ГПО (на 40 %) у підшлунковій залозі тварин з ЕЦД. Пригнічення активності ГПО за досліджуваної патології призводить до інтенсифікації процесів перекисного окиснення ліпідів, про що свідчить підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів (на 11,75 % щодо контролю). Водночас нами встановлено зниження активності СОД (на 27,6%) і каталази (на 20,3 %) за умов ЕЦД, що є компенсаторною реакцією організму у відповідь на виникнення оксидативного стресу. Ми припускаємо, що за умов цукрового діабету відбувається індукція експресії редокс-чутливих генів СОД і каталази у підшлунковій залозі, і як наслідок – активація біосинтезу ізоформ цих ферментів, які хоча каталітично менш активні, проте, більш резистентні до дії активних форм кисню. При введенні БФЕКЛ тваринам з ЕЦД встановлено вірогідне підвищення активності каталази (на 61,18 %), ГПО (на 4,85%) та вмісту відновленого глутатіону (на 16,01 %) у гомогенатах підшлункової залози, що супроводжувалося істотним зниженням вмісту ТБК-позитивних продуктів.

Таким чином, БФЕКЛ виявляє цитопротекторний вплив на структурно-функціональний стан підшлункової залози за умов ЕЦД регулюючи прооксидантно-антиоксидантний баланс клітин. Встановлений біологічний ефект екстракту зумовлений наявністю у його складі сполук з підтвердженими антиоксидантними властивостями (фітол, флавоноїди вітамін Е).

Єфіменко Н., Дудок К., Сибірна Н.

ВПЛИВ L-АРГІНІНУ ТА L-NAME НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ТРОМБОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна
nataliya_yefimenko@mail.ru

Yefimenko N., Dudok K.P., Sybirna N. L-ARGININE AND L-NAME EFFECTS ON THE MORPHO-FUNCTIONAL STATE OF RATS PLATELETS UNDER ALCOHOLIC INTOXICATION. The research has been carried out into the content of platelets of rats in the con-

trol group, under alcoholic intoxication, and affected by the addition of L-arginine and L-NAME. It was shown that the consumption of L-arginine and L-NAME by the rats under the experimental conditions caused increase in the content of platelets.

Відомо, що периферична кров є особливим індикатором патологічного стану організму, який викликаний дією факторів ендогенного чи екзогенного походження. Одним з таких чинників є алкогольна інтоксикація (АІ). У цьому плані варто звернути увагу на морфофункціональний стан формених елементів крові за цієї патології, серед яких найменш досліджені тромбоцити. В останні роки з'явилося чимало наукових праць, які свідчать про важливу роль системи L-аргінін/NO у процесах гемостазу, тому важливо дослідити вплив NO на стан тромбоцитів за алкогольної інтоксикації. Для моделювання NO-регуляції ми використовували L-аргінін – як субстрат для NO-синтази, та метиловий ефір Nω-нітро-L-аргініну (L-NAME) – неспецифічний інгібітор цього ферменту.

За умов індукції АІ у щурів спостерігали чітко виражену тромбоцитопенію. Введення щурам EtOH супроводжувалося зниженням кількості тромбоцитів на 64% щодо контролю. Можна припустити, що це явище обумовлено пришвидшеним руйнуванням тромбоцитів, або сповільненим утворенням нових. При споживанні контрольними групами тварин L-аргініну або L-NAME суттєвих відмінностей у зміні кількості тромбоцитів не виявлено. Натомість у групах алкоголізованих тварин при введенні досліджуваних чинників відмічено збільшення кількості тромбоцитів (при споживанні L-аргініну на 84%, а за споживання L-NAME – на 44%).

Зміни функціонального стану тромбоцитів, супроводжуються морфологічними змінами цих клітин. Для виявлення структурних особливостей, які відбуваються у тромбоцитах за умов АІ, доцільним було порівняти за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії структурну організацію тромбоцитів у контролі та за умов АІ, а також після впливу L-аргініну або L-NAME.

Аналізуючи мікрофотографії тромбоцитів, виділених із периферичної крові дослідних щурів, відмічено наявні характерні ознаки преактивації клітин за АІ. Процес супроводжується втратою тромбоцитами дископодібної форми, утворенням псевдоподій. При цьому відбувається концентрація тромбоцитарних гранул в центральній частині кров'яних пластинок, зливання їх з вакуолями поверхневовакуолярної системи (ПВС), основна функція якої – транспорт речовин між тромбоцитом та плазмою крові. α-гранули (світлі гранули) надходять в канали ПВС, після чого може відбутися дегрануляція тромбоцитів.

За споживання L-NAME як тваринами контрольних груп, так і з АІ, відбувалося посилене утворення α-гранул і зменшення кількості щільних тілець, що свідчить про виведення аденіннуклеотидів та іонів Ca^{2+} назовні.

За споживання L-аргініну контрольними щурами морфологічна картина тромбоцитів достовірно не змінювалася, натомість у алкоголізованих тварин спостерігали зменшення частки преактивованих тромбоцитів. Проте, такі зміни не впливали на їхню агрегаційну здатність.

Жованник В., Семенко А., Мурдасов Є., Воронкова Ю. С., Ушакова Г. О.

**ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗНА ТА Г-ГЛУТАМІЛТРАНСПЕПТИДАЗНА АКТИВНІСТЬ
НИРОК ЗА ДІЇ СТРЕСУ ТА ВВЕДЕННЯ А-КЕТОГЛУТАРАТУ І А-ТОКОФЕРОЛУ**

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара
пр. Гагаріна, 72, м. Дніпро, 49010, Україна
e-mail: voronkova1983@gmail.com*

**Zhovannyk V., Semenko A., Murdasov Y., Voronkova Y., Ushakova G. ACTIVITY
OF LACTATE DEHYDROGENASE AND GLUTAMYL TRANSPEPTIDASE OF KIDNEY
UNDER THE ACTION OF STRESS AND ALPHA-KETOGLUTARATE AND AL-
PHA-TOCOFHEROL. Lactate dehydrogenase and glutamyl transpeptidase activity in kidney**

under the action of stress and introduction of α -ketoglutarate and α -tocopherol have been studied in this work. It was discovered that the stress promoted a significant increase activity of GGTP (62%) and LDG (19.8%). Using of α -ketoglutarate and α -tocopherol normalized enzymes activity, the level of protein in the homogenate of kidney and weight of kidney. This demonstrates the stabilizing activity of α -ketoglutarate and α -tocopherol in the model of stress.

Відомо, що стрес залежно від сили і тривалості призводить до клінічних та біохімічних змін, інтоксикації організму. Ці явища часто супроводжуються пошкодженням нефронів нирок тощо [Долгов В.В., 2002]. Мета нашої роботи – визначення деяких біохімічних показників у гомогенаті нирок щурів за умов розвитку стресу, адаптації та застосування α -кетоглутарату та α -токоферолу.

На початку експерименту тварини були поділені на 4 групи по 5 тварин в кожній: 1 – контрольна група щурів (фізіологічний контроль), 2 – група щурів з іммобілізованим стресом, 3 і 4 групи – щурів, яких випоювали α -КГ та α -токоферолом відповідно. Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації під етерним наркозом. Перфузію нирок від залишків крові проводили охолодженим фізіологічним розчином і зважували. У фосфатному буфері (рН 7,4) готували 10 % гомогенати нирок [Yao D., 2004]. Активність ферментів та концентрацію загального білка визначали спектрофотометрично в гомогенаті нирок за стандартними лабораторними методиками з використанням тест-наборів фірми «Реагент» (Україна, м. Дніпро).

Показано, що за умов стресу (суха і водна іммобілізація, освітлення всю добу) у гомогенатах зростає активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) та γ -глутамілтранспептидази (ГГТП) на 19,8% та 62% відповідно відносно контрольних варіантів. Зміна активності ЛДГ у тканині, а саме її підвищення може слугувати маркером гіпоксичного стану, що виникає внаслідок стресу. Щодо ГГТП, вона контролює транспорт амінокислот через мембрану клітини [Pompella A., 2007]. Даний транспортний механізм характеризується високою продуктивністю, хоча і споживає більше енергії порівняно з іншими навіть при нормальних фізіологічних умовах. За розвитку ж стресу підвищення активності ГГТП у тканині може призводити до швидкого вичерпання енергетичних резервів клітин, що і пояснюється нашими результатами. Дослідження загального пулу білка в умовах стресу виявило його зниження в 1,3 рази порівняно з контролем.

З метою корекції стресового стану проводили випоювання дослідних тварин α -КГ та α -токоферолом. Показано, що застосування цих сполук призводило до нормалізації ферментативної активності ГГТП стосовно показників контрольної групи. Активність ЛДГ при застосуванні α -КГ знаходилась у межах контролю, а при застосуванні α -токоферолу зазнає суттєвого зниження як відносно групи 2 (в 1,8 рази), так і відносно групи контролю (в 1,5 рази), що можна пояснити більш вираженими антиоксидантними властивостями даної сполуки.

Отже, аналіз отриманих даних свідчить, що за розвитку стресу змінюється ферментативна активність ЛДГ та ГГТП, що може бути пов'язано з ушкодженням одного з відділів нефрону, ушкодженням нефротелію та розвитком інших патологічних змін у нирках. Використання α -кетоглутарату та α -токоферолу може сповільнювати розвиток стресу та нормалізувати ферментативну активність лактатдегідрогенази та γ -глутамілтранспептидази.

Карплюк А.¹, Любас Н.¹, Шкребнюк Р.², Дудок К.¹, Сибірна Н.¹

**ДЛЯ СПИРОКАРБОНУ НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ
АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ЕРИТРОЦИТІВ КРОВІ ЛЮДЕЙ,
ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ ПЕРШОГО ТИПУ**

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

²Львівський обласний державний клінічний лікувально-діагностичний ендокринологічний центр, вул.
Острозького, 1, м. Львів, 79010, Україна
e-mail: nastya.karplyuk45@gmail.com

Karplyuk A., Liubas N., Dudok K., Shkrebnjuk R., Sybirna N. EFFECT OF SPIROCARBON ON ERYTHROCYTES ANTIOXIDANT ENZYMES ACTIVITY IN PEOPLE

WITH DIABETES MELLITUS TYPE 1. The effect of spirocarbon on the activity of an antioxidant enzyme catalase in healthy individuals and donors with first type diabetes was studied. It was established that the activity of catalase is lower for patients with type I diabetes than in healthy donors. After incubation with spirocarbon catalase activity increases in healthy donors and type I diabetes patients.

Цукровий діабет (ЦД) першого типу супроводжується порушеннями вуглеводного, ліпідного та білкового обмінів, що призводить до патологічних змін у функціонуванні різних органів і систем. Збільшується ригідність еритроцитів і знижується здатність змінювати форму, що допускає можливу патологію мембран. Зафіксована також підвищена здатність еритроцитів до агрегації (Бурда, 2002).

Важливими у патогенезі ендогенної інтоксикації, яка розвивається за умов ЦД, є активні форми кисню: супероксидний аніон-радикал, гідроген пероксид, гідроксильний радикал і синглетний кисень мають зайвий електрон і є надзвичайно реакційно здатними. За фізіологічних умов утворені активні метаболіти кисню знешкоджуються за участю клітинної та позаклітинної антиоксидантних систем. Однак за різних патологічних станів система антиоксидантного захисту перестає нівелювати вплив надлишкової кількості вільних радикалів. Вільні радикали починають взаємодіяти з макромолекулами клітин, спричиняючи їхнє ураження [Сибірна, 2006]. Важливим компонентом цієї системи є каталаза – фермент, який попереджує накопичення в клітині гідроген пероксиду, який посилено генерується при ЦД першого типу.

У пошуку нових сполук здатних запобігати розвитку оксидативного стресу в організмі, нами було досліджено одне із похідних піролопіримідиндіонів – спірокарбон. Метою нашої роботи було дослідити вплив спірокарбону на активність каталази у гемолізатах еритроцитів периферичної крові людей, хворих на ЦД 1-го типу, які знаходились на лікуванні у Львівському обласному державному клінічному лікувально-діагностичному ендокринологічному центрі.

Для дослідження використовували еритроцити цільної периферичної крові здорових донорів та людей із ЦД 1-го типу. Еритроцитарну масу здорових донорів та хворих на цукровий діабет I типу інкубували з розчином спірокарбону протягом 1 год. у співвідношенні 1:3 (еритроцитарна маса : розчин речовини, 1 мг/мл).

У результаті проведених досліджень виявлено зниження каталазної активності у гемолізатах еритроцитів периферичної крові хворих на цукровий діабет I типу порівняно з контролем на 10%. Після інкубації еритроцитів зі спірокарбоном, спостерігається тенденція до підвищення каталазної активності як у контрольних, так і у зразках крові хворих на цукровий діабет першого типу. Зокрема, контрольні варіанти - збільшення активності на 20 %, хворі на цукровий діабет – на 40%. Можна припустити, що оскільки спірокарбон є гідрофобною сполукою, то має здатність легко проникати через мембранні структури і безпосередньо може взаємодіяти з білковими молекулами (ферментами), змінюючи їхню конформацію, і як наслідок – активність.

Кириєнко А.¹, Рожков Р.¹, Симоненко Ю.³, Парій М.^{1,2}

**ОЦІНКА ВИХІДНОГО МАТЕРІАЛУ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ
(*TRITICUM AESTIVUM* L.) З ВИКОРИСТАННЯМ ISSR-МАРКЕРІВ**

¹Всеукраїнський науковий інститут селекції
вул. Васильківська, 30, м. Київ, 03022, Україна

²Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна

³Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України
вул. академіка Заболотного, 148, м. Київ, 03143, Україна
e-mail: anastasija.kirienko@gmail.com

Kyriienko A., Rozhkov R., Symonenko Yu., Parii M. EVALUATION OF THE COMMON WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) VARIETIES BY USING ISSR-MARKERS. In this

article were shown results of ISSR-markers analysis for fifty common wheat varieties (*Triticum aestivum* L.). All genotypes were compared according to the PCR-bands. The main result of this work was the construction of the dendrogram for all fifty common wheat varieties.

Маркери ISSR (Inter-simple sequence repeat) є зручною системою для ідентифікації та порівняння між собою різних генотипів [Karaca M., Izbirak A., 2008]. У геномі ISSR-маркери представляють собою ділянки, які фланковані короткими трьохнуклеотидними повторами ДНК. Для постановки реакції ампліфікації використовується не пара, як для SSR-маркерів, а лише один праймер. Продукти ампліфікації можуть бути застосовані, як домінантна мультилокусна маркерна система для порівняння різних генотипів (Sofalian O., Chaparzadeh N., Dolati M., 2009).

Метою цього дослідження була побудова філогенетичного дерева для 50 сортів озимої м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) шляхом використання даних з аналізу ISSR-маркерів.

У дослідженні було використано 50 сортів гексаплоїдної ($2n=42$) озимої м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.), що є частиною робочої колекції Всеукраїнського наукового інституту селекції, а саме: Альянс, Артеміда, Артемісія, Астарт, Благодарка одеська, Богданна, Борія, Бунчук, Вікторія одеська, Годувальниця одеська, Гурт, Дарунок Поділля, Жайвір, Золотоколоса, Зорепад одеський, Левада, Кнопа, Кольчуга, Магістраль, Місія одеська, Мудрість одеська, Наталка, Новокиївська, Овідій, Олексіївка, Орійка, Пилипівка, Повелія, Селянка, Сотниця, Традиція одеська, Тулуза, Ужинок, Шестопавлівка та Чорнява (UKR); Батько та Иришка (RUS); Богемія (CZE); Актер, Арктис, Етана, Колонія, Кубус, Мулан, Патрас, Самурай та Скаген (DEU); Дагмар, Іліас та Сейлор (FRA).

У дослідженнях використали тотальну ДНК, виділену з 5-денних паростків пшениці (пророщування здійснювали в темряві при температурі $+20^{\circ}\text{C}$). Для цього відібрали по 4 зернівки кожного зразка. Таким чином, ДНК виділили із усіх 4 паростків в один зразок. Екстракцію ДНК здійснили за модифікованою СТАВ-методикою [Rogers S. O., Bendich A. J., 1985]. Концентрацію виділеної ДНК виміряли при довжині хвилі 260 нм.

Для постановки методу полімеразної ланцюгової реакції використали 8 різних праймерів до ISSR-маркерів. Послідовності використаних праймерів були узяті зі статті [Abou-Deif M.H. et. al., 2013]. Продукти реакції ампліфікації розділили в 1 % агарозному гелі з додаванням бромистого етидію.

Здійснили аналіз загальної кількості фрагментів для продуктів ПЛР отриманих з використанням відповідного праймера для кожного окремого зразку (сорт). На основі отриманих результатів із використанням алгоритму UPGMA-кластерного аналізу побудували дендрограму. Ми плануємо використати одержані результати у визначенні найбільш ефективних комбінацій схрещувань між зазначеними сортами, тобто за допомогою дендрограми спрогнозувати можливість одержання гетерозису та трансгресій між генетично віддаленими зразками.

Кней В., Горбулінська О., Нагалєвська М., Дацюк Л., Сибірна Н.

**ВПЛИВ ВОДНИХ ЕКСТРАКТІВ ЛИСТЯ ТА КОРЕНЕВИХ БУЛЬБ ЯКОНА
(SMALLANTHUS SONCHIFOLIUS POEPP. & ENDL.)**

**НА АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ЛЕЙКОЦИТАХ
ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1 ТИПУ**

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів; 79005, Україна
e-mail: visimknei@yahoo.com

**Khney V., Horbulinska O., Nagalievska M., Datsyuk L., Sybirna N. EFFECT OF
YACONS (SMALLANTHUS SONCHIFOLIUS POEPP. & ENDL.) LEAF AND ROOT
TUBERS WATER EXTRACTS ON LEUKOCYTES ANTIOXIDANT DEFENSE ENZYMES**

ACTIVITY IN THE CONDITION OF EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS. The aim of the study was to investigate the effect of yacon leaf and root tubers water extract on superoxide dismutase and catalase activity, and also contents of oxidative stress products. Injection of yacon extracts to animals with diabetes mellitus enhances antioxidant enzyme activity in leukocytes and reduces contents of oxidative stress products.

Діабет 1-го типу є автоімунним захворюванням, спричиненим порушенням імунно-опосередкованого розпізнавання острівкових клітин підшлункової залози, що призводить до вивільнення прозапальних цитокінів і реактивних форм кисню та, як наслідок, руйнування панкреатичних клітин острівців Лангерганса та зниження секреції інсуліну.

Внаслідок порушення механізмів антиоксидантного захисту дана патологія характеризується стрімким зростанням вмісту вільних радикалів, підвищенням перекисного окиснення ліпідів, посиленою окисною модифікацією протеїнів та нуклеїнових кислот, що призводить до руйнування клітинних органел та порушення функціонування ензимів.

Використання екстрактів якона, який володіє цукрознижувальними та антиоксидантними властивостями, дозволяє сповільнювати утворення кінцевих продуктів глікозилювання та посилювати адаптивні можливості організму за стійкої гіперглікемії.

Одним з чутливих тестів для виявлення змін в антиоксидантному захисті імунотропних клітин є дослідження активності антиоксидантних ензимів, а також дослідження вмісту тіобарбітуратпозитивних продуктів та карбонільних груп білків.

Метою нашої роботи було дослідити вплив водних екстрактів листя і кореневих бульб якона на активність глутатіонпероксидази, супероксиддисмутази та каталази, а також на вміст тіобарбітуратпозитивних продуктів та карбонільних груп білків у лейкоцитах щурів за експериментального цукрового діабету (ЕЦД).

За умов введення екстракту якона тваринам з гіперглікемією виявлено підвищення активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази, тоді як при ЕЦД дані показники різко знижувалися. Введення екстракту якона сприяло нормалізації активності каталази за ЕЦД, значне зниження якої спостерігалось за досліджуваної патології.

За умов ЕЦД спостерігалось збільшення вмісту тіобарбітуратпозитивних продуктів та карбонільних груп білків. Введення екстракту якона зменшувало досліджувані показники з наближенням їх до норми.

Використання водних екстрактів якона при ЕЦД сприяє підвищенню активності антиоксидантних ензимів лейкоцитів та зниженню вмісту тіобарбітурат-позитивних продуктів та карбонільних груп білків.

Криницька Г., Воронкова Ю.

ВМІСТ ГЕМОГЛОБІНУ, ГЛІКОЗИЛЬОВАНОГО ГЕМОГЛОБІНУ ТА
МЕТГЕМОГЛОБІНУ В УМОВАХ ІНІЦІАЦІЇ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара

пр. Гагаріна, 72, м. Дніпро, 49010, Україна

e-mail: voronkova1983@gmail.com

Krinitzskaya G., Voronkova Y. THE LEVEL OF HEMOGLOBIN, GLYCOSYLATED HEMOGLOBIN AND METHEMOGLOBIN UNDER THE CONDITIONS OF ROS INITIATION. The level of hemoglobin, glycosylated hemoglobin, and methemoglobin in red blood cells under the condition of in vitro initiation of ROS has been studied in this work. It was discovered that the ROS provoked a significant increase in the level of hemoglobin (6.2-10.6%) and the level of methemoglobin (27-42.4%) in comparison to control group. It was shown a decrease of concentration of glycosylated hemoglobin from 24% to 11.8% with an increase of incubation time, which may be due to the processes of glucose metabolism in RBC.

В усіх тканинах і клітинах живого організму постійно відбуваються реакції вільно-радикального окиснення, що підтримуються спеціальними регуляторними системами на низькому стаціонарному рівні і беруть участь в нормальних метаболічних процесах і регуляторних механізмах клітини [Луцак В.І., 2011; Ёлкина Н., 2014]. Еритроцити, що постійно циркулюють в руслі крові – є зручною мішенню для дії радикалів різного походження. Досі немає цілісного уявлення про вплив АФК (активних форм кисню) на внутрішньоклітинний метаболізм еритроцитів. З метою з'ясування реакції еритроцитарних клітин на безпосередній вплив АФК були досліджені рівень гемоглобіну, глікозильованого гемоглобіну та метгемоглобіну в умовах ініціації окислювальних реакцій *in vitro*. Для цього еритроцити донорів інкубували в середовищі Фентона, що містить сірчаноокисле залізо і пероксид водню, протягом 2, 4 і 24 годин. Контрольну групу складали еритроцити донорів без інкубації в середовищі Фентона.

Показано, що в умовах ініціації окислювальних реакцій *in vitro* в еритроцитах поступово підвищується рівень гемоглобіну протягом усього часу інкубації від 6,2% (після 4 годин інкубації еритроцитів у середовищі Фентона) до 10,6% (після 24 годин інкубації) в порівнянні з контролем, що можна пояснити дією АФК на еритроцитарну мембрану з подальшими її структурними змінами та внаслідок цього вивільненням мембранозв'язаних фракцій гемоглобіну. Поряд з підвищенням рівня гемоглобіну показано пропорційне збільшення концентрації метгемоглобіну в гемолізаті еритроцитів: на 27% (після 2 години інкубації), на 42,4% (після 4 годин) і майже у 2,8 рази (після 24 годин) в порівнянні з контрольною групою. Таке підвищення, можливо, можна пояснити поступовим підвищенням генерування АФК в еритроцитах і залученням до цього процесу молекул гемоглобіну, що супроводжується переходом гемоглобіну в метгемоглобін з утворенням супероксиданіону [Дубинина Е., 1993]. Протилежні значення зафіксовано при визначенні глікозильованого гемоглобіну: з часом даний показник зменшувався від 24% (після 2 годин інкубації) до 11,8% (після 24 годин інкубації) в порівнянні з контролем. Таке спонтанне глікозилювання гемоглобіну пов'язано з процесами метаболізму глюкози в еритроцитах.

Отже, показано, що в умовах окисного стресу в еритроцитах людини відбуваються зміни в утворенні окремих форм гемоглобіну, що показано при інкубації еритроцитів здорових людей в середовищі Фентона, яке продукує активні форми кисню та призводить до зниження рівня глікозильованого гемоглобіну та підвищення рівня гемоглобіну та метгемоглобіну.

Мішина Ю., Волощук О., Копильчук Г.

СТАН ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У МІТОХОНДРІАЛЬНІЙ
ФРАКЦІЇ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ ПОХІДНИХ АМОНІЄВИХ СОЛЕЙ
3,4-ДИГІДРОПІРИМІДИН-2-ОНУ

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
вул.Коцюбинського, 2, м.Чернівці, 58012, Україна
e-mail: julia1794@rambler.ru

Mishyna Y., Voloshchuk O., Kopylchuk G. THE STATE OF FREE RADICAL PROCESSES IN THE LIVER MITOCHONDRIA AFTER EXPOSURE OF 3,4-DIHYDRO-PYRIMIDINE-2-ONE AMMONIUM SALTS DERIVATIVES. The research deals with the estimation of the intensity of free radical processes in the liver mitochondria of protein-deficient rats with acetaminophen-induced hepatitis after exposure of 3,4-dihydropyrimidine-2-one ammonium salts derivatives. The results of the study have shown that the most intensive free radical processes are observed in the liver mitochondrial fraction of protein-deficient rats with acetaminophen-induced hepatitis. It was established, that the effect of the inhibitor on the intensity of free radical processes in the liver mitochondria of protein-deficient rats with acetaminophen-induced

hepatitis was demonstrated in a dose of 15 mg/kg by 3,4-dihydropyrimidine-2-one ammonium salts derivative which contains a phenyl group.

Відомо, що розвиток багатьох гепатопатологічних станів характеризується посиленням вільнорадикальних процесів та накопиченням токсичних карбонільних продуктів у клітинах печінки [Rahman, 2012]. У зв'язку із цим актуальним видається пошук та розробка ефективних гепатопротекторів, що виявляють антиоксидантну активність. У розрізі даної проблеми перспективними можуть розглядатися похідні амонієвих солей 3,4-дигідропіримідин-2-ону.

Мета роботи – оцінка інтенсивності вільнорадикальних процесів у мітохондріях печінки білок-дефіцитних щурів з ацетамінофен-індукованим гепатитом за умов введення похідних амонієвих солей 3,4-дигідропіримідин-2-ону.

Результати досліджень показали, що максимальна інтенсифікація вільнорадикальних процесів, що проявлялося посиленою генерацією супероксиду із супутнім накопиченням ТБК-активних продуктів та карбонільних похідних спостерігалася у мітохондріях печінки білок-дефіцитних тварин з ацетамінофен-індукованим гепатитом. Встановлені зміни, ймовірно, будуть призводити до деструкції мітохондріальних білків, збільшення проникності та в'язкості мембран мітохондрій, порушення їх цілісності, що вноситиме дисбаланс у функціонування локалізованих у мітохондріях метаболічних шляхів та механізми регуляції клітинного гомеостазу.

На наступному етапі роботи нами досліджувався антиоксидантний ефект похідного амонієвих солей 3,4-дигідропіримідин-2-ону з фенільним угрупованням у концентраціях від 5 до 50 мг/кг. Результати проведених досліджень показали, що введення досліджуваного засобу у дозі 15 мг/кг виявляє найбільш виражений антиоксидантний ефект, знижуючи вміст супероксид аніон-радикалу до показників контролю. Водночас нами встановлено, що достовірне зниження вмісту ТБК-активних продуктів та карбонільних похідних мітохондріальних протеїнів у печінці білок-дефіцитних щурів із токсичним ураженням до показників контролю спостерігається при введенні засобу в дозі 15 мг/кг.

Отже, отримані результати дозволяють зробити висновок, що похідне амонієвих солей 3,4-дигідропіримідин-2-ону з фенільним угрупованням є перспективною сполукою для створення на її основі антиоксидантного засобу, здатного ефективно інгібувати інтенсивність вільнорадикальних процесів у мітохондріях печінки за умов її токсичного ураження.

**Мішкевич Т.¹, Горбулінська О.¹, Нагалєвська М.¹, Гачкова Г.¹,
Міщенко Л.², Сибірна Н.¹**

**СТАН ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ РІВНОВАГИ ЛЕЙКОЦИТІВ
ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1-ГО ТИПУ
ТА ВВЕДЕННЯ ВОДНОГО ЕКСТРАКТУ КОРЕНЕВИХ БУЛЬБ ЯКОНА**

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64/13, Київ, 01601, Україна
e-mail: tania.mishkevych@gmail.com

**Mishkevych T.¹, Horbulinska A.¹, Nagalievska M.¹, Hachkova H.¹, Michenko L.²,
Sybirna N.¹ PROOXIDATIVE-ANTIOXIDANT BALANCE OF LEUKOCYTES UNDER
DIABETES MELLITUS TYPE 1 AND INJECTION OF YACONS' ROOT TUBERS WATER
EXTRACT. Yacons' root tubers water extract in the doze of 500 mg / kg has protective effect on
key components of antioxidant defense system of the organism.**

На фоні гіперглікемії активується низка метаболічних шляхів перетворення глюкози, внаслідок чого відбувається надмірне утворення активних форм кисню у багатьох

клітинах, у тому числі в лейкоцитах. Відомо, що баланс вмісту активних форм кисню регулюються рядом ферментів, серед яких супероксиддисмутаза, каталаза та глутатіонпероксидаза. Порушення кількості та активності цих ензимів призводить до посилення оксидативного стресу, що призводить до ускладнення перебігу захворювання. Незважаючи на те, що сучасні можливості компенсації оксидативного стресу за умов цукрового діабету значно збільшились та в арсеналі спеціалістів зосереджена велика низка препаратів інсуліну й таблетованих цукрознижувальних засобів, фітотерапія залишається невід'ємною частиною у профілактиці та лікуванні ЦД та його ускладнень.

Метою нашої роботи було: дослідити вплив водного екстракту кореневих бульб якона (*Smallanthus sonchifolius* Poir. & Endl.) на стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги лейкоцитів щурів за умов експериментального цукрового діабету 1-го типу.

Для дослідження використовували кореневі бульби якона, з яких виготовляли водний екстракт шляхом настоювання у воді у співвідношенні 1:10 у два послідовні етапи: 15 хв при 100 °C і 45 хв при 20°C. Екстракт фільтрували й упарювали у вакуумі при 60–65 °C. Водний розчин випареного екстракту кореневих бульб якона упродовж 14 днів вводили тваринам *per os* за допомогою зонда у дозі 500 мг/кг маси тіла тварини.

Встановлено, що цукровий діабет супроводжується зростанням вмісту ТБК-позитивних продуктів та вмісту продуктів окисної модифікації білків. У наших дослідженнях було показано, що за умов діабету досліджуваної патології відмічено зниження активності ферментів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази) лейкоцитів.

У той же час при введенні водного екстракту кореневих бульб якона відмічено зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів та вмісту продуктів окисної модифікації білків. Нами показано, що досліджуваний екстракт володіє коригуючим впливом на активність ферментів антиоксидантного захисту.

Таким чином, водний екстракт кореневих бульб якона у дозі 500 мг/кг здійснює протекторну дію щодо ключових компонентів системи антиоксидантного захисту організму за умов цукрового діабету. Такий коригуючий ефект водних екстрактів кореневих бульб якона ми пов'язуємо з вмістом поліфенолів (хлорогенової, кавовою та феруловою кислотами) та незамінної амінокислоти триптофану.

Мунько О., Чорненко Н., Раєцька Я.

**ВПЛИВ МЕЛАНІНУ НА РІВЕНЬ ЦИТОКІНІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ
ЗА ОПІКУ СТРАВОХОДУ ПЕРШОГО СТУПЕНЯ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка
проспект Академіка Глушкова, 2, м. Київ, 03022, Україна
e-mail: oksana.munk@ukr.net*

Munko O., Chornenka N., Raetska J. MELANIN INFLUENCE ON THE LEVEL OF CYTOKINES IN BLOOD SERUM OF RATS WITH FIRST DEGREE ESOPHAGUS BURNS. Today the problem of alkali burns of the esophagus in children are acute, due to the increasing use in everyday life concentrated chemicals. An important indicator of the severity of inflammatory process is a level of cytokines in blood serum. The melanin has a wide range of biological activity and can be effective in the treatment of esophageal alkali burns.

На сьогоднішній день проблема лужних опіків серед дітей, особливо віком до трьох років, стає все більш актуальною, що зумовлено використанням у побуті висококонцентрованих хімічних засобів. Важливу роль при формуванні патогенезу запального процесу відіграє порушення балансу цитокінів – низькомолекулярних білків, які є медіаторами міжклітинних взаємодій при імунній відповіді і запаленні, зокрема прозапальних (інтерферон-γ,

фактору некрозу пухлин- α та інтерлейкінів-1 β , -12, -6). Препарат меланін характеризується широким спектром біологічної активності і може бути ефективним при лікуванні лужних опіків. Метою роботи було відтворення експериментальної моделі лужного опіку стравоходу 1-го ступеню, визначення рівня прозапальних цитокінів у сироватці крові та дослідження впливу меланіну.

У досліджах використовували білих нелінійних статевонезрілих щурів (1-місячних) масою 90 – 110 г, яким експериментально моделювали лужний опік стравоходу (ЛОС) 1 ступеня 10 % розчином NaOH [Раєцька, 2013]. Тварин поділяли на 3 групи: 1 група, контроль; 2 група ЛОС 1-го ступеня, яким вводили фізіологічний розчин в дозі 1 мг/кг; 3 група ЛОС 1-го ступеня, яким вводили препарат в дозі 1 мг/кг. Введення препарату проводилось протягом 21 доби. Сироватку для дослідження відбирали на 21 добу [Фісталь, 2007]. Рівень цитокінів у крові визначали за допомогою методу імуноферментного аналізу з використанням наборів реактивів Biotrak ELISA System фірми «Healthcare» згідно з інструкціями. Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням програми Excel.

За умов моделювання ЛОС 1 ступеня на 21-шу добу, нами було встановлено підвищення рівня прозапальних цитокінів, зокрема вміст ІЛ-1 β підвищився на 22 %, порівняно з контрольними значеннями. Спостерігали також зниження рівня ФНП- α на 6 %. За час експерименту вміст цитокінів, а саме ІФН- γ , ІЛ-12, ІЛ-6, у крові за умов ЛОС поступово знижувався на 21-шу добу та наближався до контрольних значень. Після введення препарату меланіну у концентрації 1 мг/кг вміст прозапальних інтерлейкінів змінився: ІЛ-12 був підвищений на 12 %, ІЛ-6 на 21-шу добу знизився на 13 %, порівняно з контролем. Рівень ІФН- γ на 21-шу добу залишився без змін. Таким чином, зміна вмісту протизапальних інтерлейкінів була більш виражена при збільшенні дози меланіну.

Отже, при моделюванні ЛОС у щурів, рівень прозапальних ІЛ змінюється. Введення меланіну вплинуло на рівень цитокінів, а саме: вміст ІЛ-12 знизився на 10 %, рівень ІЛ-6 знизився на 16 %, порівняно із ЛОС. Виявлено, що препарат меланін впливає на зниження рівня цитокінів у сироватці крові, що свідчить про зменшення розвитку запалення.

Немеш Я., Кропивко С.

**КАРТУВАННЯ МОТИВІВ ЗВ'ЯЗУВАННЯ СКАФФОЛДНОГО БІЛКА TKS5
З ОКРЕМИМИ БІЛКАМИ-ПАРТНЕРАМИ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка
ННЦ "Інститут біології та медицини"
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01601, Україна
e-mail: yariknemes@gmail.com*

Nemesh Y., Kropyvko S. MAPPING CONNECTION LOCI OF SCAFFOLD-PROTEIN TKS5 WITH SEPARATE PROTEIN-PARTNERS. TKS5 – is a scaffold-protein that takes part in invadopodia functioning. TKS5 is a critical component of invadopodia as its absence results in the loss of cancer cells ability to form these invasive structures. Therefore, searching new protein partners of TKS5 will help us understand the process of metastasis and find new targets for treatment of cancer. We checked the interaction between TKS5 and SH3-domains of several proteins involved in endo-, exocytosis, actin cytoskeleton reorganization, extracellular matrix interaction, and degradation. The GST pull-down assay was used to identify the interaction. TKS5 interact with SRC, PLC γ 1, CRK, AMPH1, BIN1, CTTN and weakly with AMPH1, BIN1, SRC in vitro.

З кожним роком кількість онкохворих у світі невідносно зростає. Не зважаючи на сучасні методи лікування, проблема утворення метастаз пухлиною ускладнює лікування. Також метастазування сприяє утворенню вторинного вогнища патологічного процесу, що значно погіршує стан хворого. Раковим клітинам інвазивність та метастазування забезпечу-

ють інвадоподії [Seals et al, 2005]. Інвадоподії – це спеціалізовані мембранні вип'ячування, що мають у своїй основі актин-збагачений «каркас», який оточений скаффолдними білками та білками адгезії [Murphy et al, 2011]. Вони забезпечують клітинно-субстратну адгезію, викликають деградацію компонентів позаклітинного матриксу, і таким чином забезпечують міграцію та інвазію клітин в оточуючі тканини. Одним з таких є TKS5 - скаффолдний білок, який бере участь у процесі полімеризації актину та формуванні вигинів мембрани з подальшим утворенням інвадоподій. TKS5 взаємодіє з мембранними металопротеазами, які спричиняють деградацію позаклітинного матриксу, що забезпечує міграцію та інвазію клітин в оточуючі тканини. Отже, подальше вивчення ключових компонентів інвадоподій дозволить у майбутньому краще зрозуміти молекулярну основу канцерогенезу та метастазування, а також – визначити основні мішені протиракової терапії [Courtneidge et al, 2012].

Тому метою нашої роботи стало дослідження зв'язування TKS5 з рядом білків, що беруть участь у регуляції та реорганізації актинового скелету, екзо-, ендоцитозі, деформації плазматичної мембрани та деградації позаклітинного матриксу. TKS5 має Phox-гомологічний домен, що зв'язується з плазматичною мембраною, п'ять SH3-доменів і декілька пролін-збагачених мотивів, які опосередковують білок-білкову взаємодію, що сприяє формуванню білкових комплексів. Відповідно до структурних та функціональних критеріїв для перевірки взаємодії з TKS5 ми обрали білки: SRC, нейрональний SRC, PLC γ 1, CRK, AMPH1, BIN1, CTTN, CSK, GRB2, ITSN1 та ITSN2. Для перевірки взаємодії використовували рекомбінантні GST-злиті SH3-домени вище перелічених білків, експресованих у бактеріальних клітинах *E.coli* штаму XL1-Blue^{let}, та надекспресований у клітинах людини лінії HEK293 TKS5. Перевірка проводилась методом GST Pull-down. Після GST Pull-down проводили ПААГ-електрофорез з наступним Вестерн-блот аналізом із детекцією специфічними антитілами до TKS5 та anti-FLAG первинними антитілами. Детекція GST-злитих SH3-доменів та GST, у якості негативного контролю, проводилась фарбуванням Кумасі.

У результаті GST Pull-down виявлено взаємодію TKS5 з SRC, PLC γ 1, CRK, AMPH1, BIN1 та CTTN. З білками AMPH1, BIN1 та SRC виявлена слабка взаємодія. TKS5 з CRK, PLC γ 1, CSK та нейрональним SRC не взаємодіє. Виявлено, що TKS5 взаємодіє з нейрон-специфічною формою SH3A-домену ITSN1 та з SH3D-доменом ITSN2.

Никитюк К., Федорович Д., Дудок К.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА ВЛАСТИВОСТІ ПІГМЕНТІВ З КУЛЬТУРАЛЬНОЇ РІДИНИ *STREPTOMYCES DAVAWENSIS*

Інститут біології клітини НАН України
вул. Драгоманова, 14/16, Львів, 79005, Україна
e-mail: institute@cellbiol.lviv.ua

Nykytuik K., Fedorovich D., Dudok K. IDENTIFICATION AND FEATURES OF PIGMENTS FROM *STREPTOMYCES DAVAWENSIS* Microorganisms *Streptomyces davawensis* and *Streptomyces cinnabarinus* are producing rozeoflavin (RoFL) known natural analog of riboflavin (RF) (vitamin B₂) with antibiotic properties. We conducted the identification of pigments in culture broth from *Streptomyces davawensis*, isolated, purified and obtained in preparative amounts RoFL. Investigated that RoFL as RF is transported into cells by the active transport system.

Бактерії *Streptomyces davawensis* та *Streptomyces cinnabarinus* продукують розеофлавін (РоФЛ), відомий природний аналог рибофлавіну (РФ) (вітаміну B₂) з властивостями антибіотика (пригнічує ріст *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus* та ін.). РоФЛ може вважатися природним антиметаболітом, який синтезується з

флавінмононуклеотиду (ФМН) через ключовий попередник 8-диметил-8-амінорибофлавін (АФ). Тваринні клітини не здатні до поглинання цих сполук, а клітини мікроорганізмів здатні до абсорбції РоФЛ та АФ за допомогою РФ-транспортної системи.

Метою роботи було: виділити та очистити РоФЛ із культурального середовища *S. davawensis* та отримати його препаративні кількості; дослідити транспортування РоФЛ в клітини різних штамів дріжджів *Pichia guilliermondii* з колекції культур Інституту біології клітини НАН України. Уридин-залежний штам R66, який не здатний до поглинання РФ, інсерційні мутанти IS19 (висока здатність до поглинання РФ) і IS-2 (нездатний до поглинання РФ), уридинзалежний мутант R93 (здатний до поглинання РФ). Штам *S. davawensis* (JCM 4913) був отриманий із японської колекції мікроорганізмів (JCM).

Для отримання препаративних кількостей РоФЛ використовували культуральну рідину *S. davawensis*, вирощених у середовищі, що містило крохмаль і дріжджовий екстракт, впродовж 7 діб в колбах об'ємом 500 мл (50 мл середовища) при температурі 37°C. Очищення РоФЛ з культуральної рідини *S. davawensis* проводили на сорбенті "Florisil" (колонка 1 x 6 см, елюція за допомогою градієнта ацетону 0-50%). Чистоту отриманого препарату РоФЛ було перевірено спектрофотометрично. Проведено ідентифікацію пігментів культуральної рідини *S. davawensis*, використовуючи висхідну паперову хроматографію у 5% розчині $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ та тонкошарову хроматографію (пластинки «Syfusol») у 5% розчині $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ і 4 органічних розчинників. Основним пігментом в культуральній рідині є РоФЛ. Спектрохімічним аналізом становлено, що у культуральній рідині крім РоФЛ міститься ще декілька пігментів, які флуоресціюють у УФ жовтим та фіолетовим кольором.

Перевірено здатність до поглинання РоФЛ штамом R66, інсерційними мутантами IS19, IS-2 та R93. Показано, що поглинання РоФЛ різними штамми дріжджів є активним процесом і відбувається за допомогою РФ транспортної системи.

Ніконішина Ю., Шкрабак О., Векліч Т.

ІНГІБІТОРНИЙ ВПЛИВ КАЛІКС[4]АРЕНУ C-956 НА Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФ-азу
ПЛАЗМАТИЧНОЇ МЕМБРАНИ КЛІТИН МІОМЕТРІЯ

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
вул. Леонтовича, 9, м. Київ, 01601, Україна
e-mail: ul-95@mail.ru

Nikonishyna Yu., Shkrabak O., Veklich T. THE INHIBITORY INFLUENCE OF CALIX[4]ARENE C-956 ON THE PLASMA MEMBRANE Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase IN UTERINE MYOCYTES. The excess activity of the plasma membrane Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase (PMCA) as the main terminator of a calcium signal in uterine myocytes can result in myometrium hypotonia or atonia. The results of the present study demonstrate that newly synthesized supramolecular compound calix[4]arene C-956 can be effective uterotonic drug through selective inhibition of PMCA and decrease $[\text{Ca}^{2+}]_i$ level and effective hydrodynamic diameter of smooth muscle cell.

Ключову роль в термінації кальцієвого сигналу в міоцитах матки відіграє Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФ-аза плазматичної мембрани (PMCA), яка за рахунок гідролізу однієї молекули АТФ транспортує один іон кальцію з цитозолу. Відомо, що надмірне зростання активності даного ензиму в міометрії може зумовити розвиток гіпотонусу чи атонії м'яза матки. Тому PMCA слугує важливою фармакологічною мішенню, а пошук селективних інгібіторів як перспективних сполук для корекції зазначених патологій є актуальною проблемою. Єдиними широковідомими сполуками, які селективно пригнічують активність PMCA, є штучні пептиди калоксини, застосування яких, однак, має деякі недоліки.

Втім, раніше співробітниками відділу біохімії м'язів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна було встановлено, що низькомолекулярна сполука калікс[4]арен C-90 селективно

дозозалежно впливає на активність РМСА ($I_{0,5}=20,2 \pm 0,5$ мкМ, $n=5$). Проте пошук більш ефективних інгібіторів ензиму на цьому не завершується і дана робота присвячена особливостям інгібіторного впливу новосинтезованого калікс[4]арену С-956.

На першому етапі дослідили вплив низки калікс[4]аренів (С-715, С-772, С-960, С-716, С-957, С-975, С-90, С-956) в концентрації 100 мкМ на питому Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРазну активність фракцій ПМ, виділених з міометрія свині. Серед даних калікс[4]аренів найвищою інгібіторною дією володіла сполука із кодовою назвою С-956 ($I_{0,5}=15,0 \pm 0,5$ мкМ, $n=5$).

Наступним завданням була перевірка селективності калікс[4]арену С-956, а саме було визначено активність мембранних АТРаз (Mg^{2+} -АТФ-ази, Ca^{2+} -АТФ-ази, Na^+ , K^+ -АТФ-ази, Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФ-ази) у присутності 100 мкМ калікс[4]арену С-956 в середовищі. Ця сполука не впливала на активність Mg^{2+} -АТФ-ази, Ca^{2+} -АТФ-ази, Na^+ , K^+ -АТФ-ази, натомість калікс[4]арен С-956 чинив істотну інгібіторну дію на Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФ-азу (РМСА) (спостерігалось зниження її активності на 79,2 % відносно контролю).

Надалі з метою визначення характеру впливу калікс[4]арену С-956 на концентрацію вільного кальцію в клітині було використано метод конфокальної мікроскопії. Встановлено, що під дією 20 мкМ С-956 флуоресценція Ca^{2+} -чутливого зонду флюо-4 в міоцитах матки тимчасово зростає. Протягом 2,5 хв концентрація Ca^{2+} знижується, що свідчить про залучення компенсаторних систем видалення іонів кальцію з клітини. Також за допомогою методу лазерно-кореляційної спектроскопії показано, що калікс[4]арен С-956 (50 мкМ) подібно до утеротоніка окситоцину (100 нМ) призводив до зменшення гідродинамічного діаметра міоцитів на 45 % відносно контролю, що пояснюється змінами водно-осмотичного балансу клітин під дією зазначеного калікс[4]арену.

Отже, отримані результати свідчать, що калікс[4]арен С-956 – перспективний ефективний селективний інгібітор Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФ-азної активності, який зумовлює підвищення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} та зменшення гідродинамічного діаметра клітини, що може лежати в основі механізму зміни скоротливої активності міометрію.

Автори висловлюють вдячність академіку НАНУ проф. С.О. Костеріну та член-кор. НАН України Кальченку В.І. за обговорення результатів дослідів та творчі дискусії.

Онуфрович О., Фафула Р., Єфремова У.

**ЗМІНИ АКТИВНОСТІ NO-СИНТАЗИ У СПЕРМАТОЗОЇДАХ ЧОЛОВІКІВ
ІЗ РІЗНИМИ ФОРМАМИ ПАТОСПЕРМІЇ**

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010, Україна
e-mail: onufrovych@yandex.ua*

Onufrovych O., Fafula R., Iefremova U. CHANGES OF NO-SYNTHASE ACTIVITY IN SPERMATOOZOA OF MEN WITH VARIOUS FORMS OF PATOSPERMIA. It was shown that pathospermia is accompanied by an imbalance in the system of NO synthesis in the sperm cells, that includes the activation of iNOS and significant inhibition of its constitutive isoform. This indicates “uncoupling” of NOS in spermatozoa and its dysfunction. The obtained data indicate violations of NO-homeostasis, hyperproduction of “harmful” NO by iNOS and activation of nitric stress in the spermatozoa of men with various forms of pathospermia, which will result in disruption of their functions, in particular, the ability of fertilization.

На сьогоднішній день проблема непліддя є надзвичайно важливою в медицині та біології. Порушення сперматогенезу є суттєвою причиною цієї патології [Lee, 2014].

Важливим аспектом у розвитку непліддя в чоловіків є порушення функціонування NO-сигнальної системи [Kullisaar, 2013], яка задіяна в регулюванні найрізноманітніших

фізіологічних функцій, а також у розвитку патологічних процесів. Тому, з'ясування стану NO-синтазної системи та дослідження активності ізоформ NO-синтази в сперматозоїдах при різних формах неплідності у чоловіків були метою даної роботи.

Дослідження проводилося у 2014–2016 рр. До його виконання було залучено 72 чоловіки з непліддям у шлюбі та 20 соматично здорових чоловіків зі збереженою фертильністю й нормозооспермією та підтвердженим батьківством. Вікова група обстежених становила 21–44 роки.

Визначення сумарної активності NO-синтази в сперматозоїдах визначали за вмістом L-цитруліну по кольоровій реакції з антипірином.

Згідно з результатами проведених досліджень активність eNOS сперматозоїдів пацієнтів із порушеною фертильністю усіх досліджуваних груп була істотно нижчою. Зокрема, у чоловіків з олігозооспермією активність eNOS сперматозоїдів була нижчою в 1,5 раза стосовно показника у фертильних чоловіків, з астенозооспермією – в 1,4 раза, з олігоастенозооспермією – 1,5 рази, з лейкоцитоспермією – у 3,2 раза.

Паралельно в сперматозоїдах у пацієнтів із порушеною фертильністю зростала активність iNOS. Найбільш виражена вона була в сперматозоїдах чоловіків із лейкоцитоспермією, що перевищувало контрольні значення більш ніж у 56 разів. Водночас, у сперматозоїдах хворих інших досліджуваних груп було встановлено вірогідну активацію iNOS, яка була меншої інтенсивності. Зокрема, в порівнянні з контролем активність iNOS у сперматозоїдах чоловіків з олігозооспермією була вищою в 22,9 раза, у чоловіків з астенозооспермією – майже в 30 разів та при поєднаній патології – в 30,7 раза.

Отже, стан NO-синтазної системи у сперматозоїдах чоловіків із різними формами патоспермій характеризується домінуванням активності iNOS. Цей ензим продукує велику кількість NO, і, як наслідок, надлишкова кількість NO порушує нормальну функцію клітин. Зокрема, гіперпродукція NO може призводити до утворення пероксинітриту, який виявляє генотоксичний вплив, пошкоджує хімічну структуру ДНК сперматозоїдів [Покровский, 2005], а також впливає на процеси утворення та дозрівання сперматозоїдів, їх рухливість та морфологію [Mehraban, 2005].

Отримані нами дані вказують, що за умов патоспермії в сперматозоїдах відбувається порушення NO-гомеостазу, гіперпродукція “шкідливого” NO за участю iNOS та активація нітрозивного стресу, що викликає порушення запліднювальної здатності сперматозоїдів.

Поважняк Г., Коваль Т., Ішук Т., Раєцька Я.

**РІВЕНЬ ЦИРКУЛЮЮЧИХ ІМУННИХ КОМПЛЕКСІВ У КРОВІ ЩУРІВ
ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВІДТВОРЕННЯ МОДЕЛІ
КИСЛОТНОГО ОПІКУ СТРАВОХОДУ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 60, м. Київ, 01033, Україна
e-mail: galinapovazhniak@gmail.com*

Povazhniak H., Koval T., Ishuk T., Raetska Y. LEVEL OF CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES IN THE RAT'S BLOOD UNDER EXPERIMENTAL REPRODUCTION OF ESOPHAGUS ACID BURNS MODEL. In this research, it was found that acid burns of the esophagus accompanied by significant changes in the humoral link of the immune system. On the 1st day of acid burns, in the esophagus of experimental animals, the concentration of most toxigenic middle and low circulating immune complexes increased. On the 21st day in the animals who received 30 % burns using solution CCl₃SOON, indicators of medium and low molecular circulating immune complexes tended to increase.

За статистикою, 70% пацієнтів з опіками стравоходу – діти віком від 1 до 6-ти років. Тому важливо знаходити ефективні підходи комплексної терапії опікової хвороби стра-

воходу, які, в свою чергу, залежать від стану імунологічної реактивності організму. Адже при тяжких опіках виснажується гуморальна ланка імунітету та розвиваються аутоімунні реакції.

У цьому дослідженні ставилося за мету оцінити рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в крові щурів за умов експериментального відтворення моделі кислотного опіку стравоходу.

У дослідах використовували білих нелінійних одномісячних щурів масою 90 – 110 г. Тваринам експериментально моделювали кислотний опік стравоходу (КОС) розчином 30% CCl_3COOH , який відповідає II стадії опіку стравоходу [Раєцька 2014]. Робота проведена відповідно до правил Європейської конвенції про гуманне ставлення до лабораторних тварин [Strasbourg, 1986] та «Загальних принципів експериментів на тваринах», ухвалених національним конгресом з біоетики. Вміст ЦІК у сироватці крові визначали методом преципітації у 4,5% розчині поліетиленгліколя-6000 (ПЕГ-6000). Для моделювання були обрані стадії шоку та септикотоксемії опікової хвороби. Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням програми OriginLab 8.0. Зміни показників вважали достовірними при $P < 0,05$, а при $P > 0,05$ зміни враховували як тенденцію.

Нами було встановлено, що за КОС відбувались зміни рівня ЦІК на перший день після моделювання кислотного опіку. При дослідженні рівня високомолекулярних ЦІК у тварин, яким індукували КОС, спостерігалась тенденція до збільшення їх рівня в 1,3 раза порівняно з показниками інтактного контролю у тварин. Рівень середньомолекулярних ЦІК також перевищував контрольні значення в 1,3 раза, що свідчить про розвиток запальних процесів. Водночас підвищувався рівень низькомолекулярних ЦІК у групі тварин з КОС. Показники перевищували контрольні значення в 1,4 раза. При дослідженні рівня високомолекулярних та середньомолекулярних ЦІК у тварин на 21-шу добу після опіку спостерігалась тенденція до незначного збільшення їх рівня, порівняно з показниками інтактного контролю. У той час, як показники низькомолекулярних ЦІК у тварин, які мали КОС, були вище контрольних у 1,25 раза. Особливості стану імунної системи на 21-шу добу полягають у тому, що в ході нашого дослідження у статевонезрілих щурів (1-місячних) з КОС відбувалась активація більшості показників.

Таким чином, було виявлено, що КОС супроводжувався значними змінами в гуморальній ланці імунної системи. На 1-шу добу розвитку КОС у піддослідних тварин підвищувалася концентрація найбільш токсигенних – середньо- та низькомолекулярних ЦІК. На 21-шу у тварин, які отримали опік 30% розчином CCl_3COOH , показники середньомолекулярних та низькомолекулярних ЦІК мали тенденцію до підвищення.

Поліщук П., Ракша Н.

ВПЛИВ НА ЗГОРТАННЯ КРОВІ ФІБРИНОГЕНАЗИ,
ІЗОЛЬОВАНОЇ З АНТАРКТИЧНОГО МОРСЬКОГО ГРЕБІНЦЯ
ADAMUSSIIUM COLBECKI

*Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини»
Київського національного університету імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська 64/1, м. Київ, 01601, Україна
e-mail: ppolishchuk94@gmail.com*

Polishchuk P., Raksha N. THE INFLUENCE OF FIBRINOGENASE ISOLATED FROM THE ANTARCTIC SCALLOP ADAMUSSIIUM COLBECKI ON BLOOD COAGULATION. The fibrinogenase from the Antarctic scallop was isolated by two-step procedure including affinity chromatography on Blue Sepharose 6 FF column followed size exclusion chromatography on HiLoad 16/60 Superdex 200 PG column, which provided a high level of homogeneity. Purified fibrinogenase cleaved preferentially A α -chain of fibrinogen. According to obtained result

investigated enzyme inhibited ADP-induced platelet aggregation and the inhibition increased with increasing concentration of the enzyme.

Невпинне зростання поширеності серцево-судинних захворювань серед населення більшості країн світу обумовлює актуальність розширення арсеналу лікарських засобів, здатних ефективно впливати на систему гемостазу, зокрема спрямованих на попередження утворення тромбів. Сучасні тромболітичні засоби, незважаючи на безумовну клінічну цінність, у більшості випадків мають низку суттєвих недоліків, а саме межу ефективності, здебільшого короткий період напіввиведення, значні дози для досягнення терапевтичного ефекту. Відповідно, існує потреба у пошуку безпечного й дешевого тромболітика. Морські гідробіонти Антарктичного регіону є унікальним джерелом різноманітних за хімічною будовою та біологічними активностями сполук, які потенційно можуть бути використані для профілактики і лікування ряду захворювань. Проте, незважаючи на досить широкий спектр активностей, робіт, присвячених дослідженню впливу сполук з морських гідробіонтів на систему гемостазу на сьогодні не достатньо, що і обумовило мету нашого дослідження, а саме виділити з Антарктичного морського гребінця фібриногеназу та перевірити її вплив на агрегацію тромбоцитів.

Для виділення та очистки фібриногенази було використано комплексний підхід, що включав поетапне хроматографічне фракціонування екстракту тканин Антарктичного морського гребінця за допомогою афінної хроматографії на сорбенті Blue Sepharose 6 FF з наступною хроматографією, що поділяє за розмірами на колонці HiLoad 16/60 Superdex 200 PG. Виділений нами фермент виявляв високу специфічність щодо А α -ланцюгів фібриногену, що дозволило охарактеризувати його як фібриногеназу. Вплив фібриногенази з Антарктичного морського гребінця на агрегацію тромбоцитів досліджували у фракції збагаченій на тромбоцити. Швидкість агрегації реєстрували за допомогою агрегометра АТ-02 (Медтех, РФ) за зміною світлорозсіювання інкубаційної суміші до і після введення індуктора агрегації АДФ у концентрації 5×10^{-6} М. Результати проведених досліджень свідчать про здатність виділеної нами фібриногенази інгібувати АДФ-індуковану агрегацію тромбоцитів. Так, було показано зниження ступеня агрегації тромбоцитів на 80,5 % та 31,8 % відповідно при внесенні до інкубаційного середовища ферменту у концентрації 12,5 мкг/мл та 6,25 мкг/мл. Виявлений нами вплив фібриногенази може бути результатом розщеплення фібриногену та руйнування фібринових містків між тромбоцитами, що є необхідною умовою для процесу агрегації тромбоцитів.

Протопопов М.¹, Остринська О.¹, Сірко С.², Горобець М.², Десенко С.², Ярмолюк С.¹

**ПОШУК ІНГІБІТОРІВ ПРОТЕЇНкінази CK2 СЕРЕД ПОХІДНИХ
ДИГІДРОБЕНЗО[4,5]ІМІДАЗО[1,2-*a*]ПІРІМІДИН-4-ОНУ**

¹Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна
e-mail: mykola.protopopov@gmail.com

²ДНУ «НТК «Інститут монокристалів» НАН України
пр. Науки 60, Харків, 61001, Україна
e-mail: gorobets@isc.kharkov.com

Protopopov M., Ostrynska O., Sirko S., Gorobets M., Desenko S., Yarmoluk S. DISCOVERY OF NOVEL PROTEIN KINASE CK2 INHIBITORS AMONG DIHYDROBENZO[4,5]IMIDAZO[1,2-*a*]PYRIMIDIN-4-ONE DERIVATIVES. Protein kinase CK2 is a constitutively active highly conserved serine/threonine kinase, which is involved in the regulation of signal transduction, transcription, translation, proliferation, cell cycle and apoptosis. In this work, the rational design of novel CK2 inhibitors have been performed using virtual

screening and *in vitro* biochemical assay. It was found that dihydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pyrimidin-4-one derivatives inhibited protein kinase with IC_{50} values from 7.5 to 2.5 μ M.

СК2 – це високо консервативна конститутивно активна серин-треонінова протеїнкіназа. Цей ензим знаходиться в усіх компартментах клітинах, де фосфорилує близько 400 субстратів, таким чином залучаючись у ключові процеси в клітині: сигнальну трансдукцію, транскрипцію, трансляцію, проліферацію, контроль клітинного циклу та апоптоз. Зважаючи на це, СК2 привертає увагу медичних хіміків як молекулярна мішень, тому активно ведеться пошук інгібіторів даної протеїнкінази для розробки на їх основі ліків, зокрема від раку.

Метою роботи є пошук нових класів інгібіторів протеїнкінази СК2, використовуючи методи молекулярного моделювання та біохімічного тестування.

Для досягнення мети був проведений віртуальний скринінг бібліотеки низькомолекулярних органічних сполук різних хімічних класів, яка налічувала 1106 структур. За результатами докінгу було відібрано 12 сполук для біохімічного тестування. За результатом біохімічних експериментів найбільшу активність проявила сполука 10-N-циклопентилацетамід-2-(3-метоксифеніл)дигідробензо[4,5]імідазо[1,2-*a*]піримідин-4-он із значенням IC_{50} відносно СК2 6,8 мкМ.

Аналіз бази даних ChEMBL показав, що похідні дигідробензо[4,5]імідазо[1,2-*a*]піримідин-4-ону не досліджувались на активність щодо протеїнкіназ. Тому для більш детального дослідження було відібрано 223 аналоги активної сполуки, що не входили в первинну бібліотеку. За допомогою віртуального скринінгу з них було відібрано та протестовано *in vitro* 37 сполук. Біохімічні дослідження показали, що 31 сполука проявила інгібувальну активність щодо СК2 із значеннями IC_{50} від 7,5 мкМ до 2,5 мкМ.

Отже за допомогою методів комп'ютерного моделювання та *in vitro* тестів було знайдено новий клас інгібіторів протеїнкіназ СК2 – дигідробензо[4,5]імідазо[1,2-*a*]піримідин-4-он який є перспективним для подальшого дослідження.

Рудницька М.

ВПЛИВ МЕТИУРА ТА ІВІНА НА ФУНКЦІОНУВАННЯ Ca²⁺/H⁺-АНТИПОРТЕРА ВАКУОЛЯРНОЇ МЕМБРАНИ В КОРЕНЯХ ПРОРОСТКІВ КУКУРУДЗИ ЗА УМОВ ЗАСОЛЕННЯ

*Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України
вул. Терещенківська, 2, м. Київ, 01601, Україна
e-mail: mariaaria@ukr.net*

Rudnytska M. EFFECT OF BIOACTIVE PREPARATIONS METHYURE AND IVINE ON Ca²⁺/H⁺ ANTIPORTER ACTIVITY IN VACUOLAR MEMBRANES OF CORN ROOT CELLS UNDER SALINITY CONDITIONS

In experiments on maize seedling roots, exposed in the presence of 0.1 M NaCl, has been explored the influence of the bioactive preparations cyclohexane series on the functioning Ca²⁺/H⁺-antiporter vacuolar membrane. It was found that both preparations in concentration 10⁻⁷ M, had been used in preprocessing seeds, slightly increased activity of Ca²⁺/H⁺-antiporter under control conditions. If salt exposure seedlings for 1 and 10 - days Methyure caused a significant increase of activity of Ca²⁺/H⁺-antiporter and Ivine somewhat weakened it. The obtained results point to the dependence salt protective effect Methyure of its impact on the functioning of Ca²⁺/H⁺-antiporter vacuolar membrane.

Засолення ґрунтів для рослин є одним із найсильніших стресових факторів постійної дії, що пригнічує їх ріст і розвиток через токсичну дію Na⁺ на клітинний метаболізм [Munns, 2008], зумовлюючи зниження врожайності [Gupta, 2014]. Тому за цих умов важливе значен-

ня має функціонування системи вторинно-активного транспорту Na^+ , репрезентованої Na^+/H^+ -антипортером, який видаляє його з цитоплазми до вакуолярного простору [Wu, 2015]. При цьому важливе значення мають низько афінні $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -антипортери вакуолярної мембрани, які здатні опосередковувати стрес-відповіді на дію абіотичних факторів [Manohar, 2011], зокрема засолення [Yamada, 2014]. Регуляція функціонування Na^+/H^+ -антипортера здійснюється за допомогою кальцій-залежного сигнального шляху SOS (Salt-Overly-Sensitive), який складається з протеїнів SOS3 – SOS2 – SOS1 [Shi, 2002].

Посилення солестійкості рослин вимагає пошуку нових способів корекції дії засолення, зокрема за допомогою біоактивних препаратів, серед яких нами було застосовано Метіур та Івін, котрі виявили ріст-стимулюючі й солепротекторні властивості [Палладіна, 2011]. Метою даної роботи було визначення їх впливу на функціонування $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -антипортера вакуолярної мембрани в коренях проростків кукурудзи за умов засолення.

Проростки *Zea mays* L. (гібрид Остреч СВ), вирощені у водній культурі на середовищі Хогленда, експонували протягом 1 та 10 діб в присутності 0,1M NaCl. Біоактивні препарати застосовували у концентрації 10^{-7} M шляхом замочування насіння протягом доби. Препарати вакуолярної мембрани отримували у двофазному градієнті сахарози [Poole, 1984], визначаючи активність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -антипортера вакуолярної мембрани [Blumwald, 1986] у модифікації [Коломієць, 2014] на спектрофлуориметрі Quanta Master 40 PFI (Канада) із програмним забезпеченням FelixGX 4.1.0.3096 із зондом Fluo-4 AM.

Знайдено, що обидва препарати за контрольних умов дещо посилювали активність $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -антипортера вакуолярної мембрани. Проте, за умов сольової експозиції застосування Метіура викликало подальше зростання активності $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -антипортера, яке зберігалось з часом, тоді як ефект Івіна виявився протилежним. Одержані результати вказують на відмінність ролі зазначених препаратів у функціонуванні $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -антипортера вакуолярної мембрани, демонструючи перевагу Метіура за умов засолення.

Соліляк З.¹, Гачкова Г.¹, Міщенко Л.², Нагалєвська М.¹, Сибірна Н.¹

ВМІСТ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК В ЕТАНОЛЬНИХ ТА ВОДНО-ЕТАНОЛЬНИХ ЕКСТРАКТАХ ЛИСТЯ ЯКОНА (*SMALLANTHUS SONCHIFOLIUS* POEPP. & ENDL.)

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 60, м. Київ, 01033, Україна
e-mail: solilyak.zoryana@gmail.com

Solilyak Z., Hachkova H., Mishchenko L., Nagalievskaya M., Sybirna N. POLYPHENOLIC COMPOUNDS CONTENT IN ETHANOLIC AND HYDRO-ETHANOLIC YACON (*SMALLANTHUS SONCHIFOLIUS* POEPP. & ENDL.) LEAF EXTRACTS. Studied extraction of bioactive compounds from yacon leaves with ethanolic and hydro-ethanolic solutions (concentration of 30%, 50%, and 70%) and influence of solvent chemical nature, its concentration, temperature (20 and 40 °C), and pH (2,0-2,5) on total polyphenol content in obtained extracts. According to our results, the most optimal extraction conditions for polyphenolic compounds are hydro-ethanolic solutions of 50% and 30% at temperature 40 °C and acidic pH.

Поповнення асортименту антидіабетичних лікарських засобів новими препаратами рослинного походження, які гідно можуть конкурувати з синтетичними препаратами потребує нових підходів до аналізу, стандартизації та всебічного дослідження лікарських рослин.

Якон (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl. – син. *Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl.) – багаторічна рослина родини айстрових, яку традиційно вирощують у північних і

центральної Андах. Нещодавно цю рослину було інтродуковано в Україні. Одними з основних біологічних ефектів якона є гіпоглікемічна та антиоксидантна дії, які є підґрунтям антидіабетичних властивостей. Згідно з літературними даними, за ці ефекти відповідають поліфенольні сполуки, найвищий вміст яких зосереджений у листі якона.

Метою роботи було провести екстрагування біологічно активних речовин з листя якона етанолом і водно-етанольними сумішами (з вмістом спирту 30 %, 50 та 70 %), а також дослідити вплив хімічної природи екстрагента, його концентрації, температури (20 та 40°C) та pH середовища (2,0 – 2,5) на кількісний вміст поліфенольних сполук у складі отриманих екстрактів.

Результати досліджень вказують на те, що найкращими екстрагентами, застосування яких дає змогу отримати найбільший сумарний вихід поліфенолів з листя якона, є водно-етанольні суміші з вмістом спирту 50 % і 30 %. Найефективніше екстрагування поліфенолів етанолом та водно-етанольними сумішами відбувається при температурі 40 °C та кислому pH.

Таким чином, застосування водно-етанольних сумішей з концентраціями спирту 50% та 30% за температури 40°C і pH 2,0 – 2,5 дає змогу отримати екстракти листя якона з найвищим вмістом поліфенолів.

Спіріна В., Отряжий П., Кириченко С.

**ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСУ Й АСТРОЦИТІВ
У МОЗКУ СТАРИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ДЕСИНХРОНОЗУ**

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара
пр. Гагаріна 72, м. Дніпро, Україна
e-mail: lereena.sp@gmail.com*

Spirina V., Otriazhyi P., Kyrychenko S. CHARACTERISTICS OF THE ANTIOXIDANT BALANCE AND ASTROCYTES IN THE OLD RATS BRAIN UNDER THE CONDITIONS OF DESYNCHRONOSIS. In our experiment, we studied markers of oxidative stress and the condition of glial cells in the brain of old rats with a lack of melatonin. The content of lipid peroxidation products increased. SOD level decreased as the level of GSH. GFAP levels are increased in the filament and soluble fractions. Thus, oxidative stress is developing in the animal brain at desynchronosis.

Баланс між перекисним окисненням з однієї сторони та функціонуванням антиоксидантної системи з другої – це необхідна умова для підтримки нормальної життєдіяльності клітини. Порушення регуляторних систем призводить до надлишкового утворення активних форм кисню, пригнічення антиоксидантного захисту з розвитком окисного стресу, наслідком якого будуть складні зміни клітинного метаболізму та пошкодження клітинних мембран, виникнення окисної модифікації білків, при якій знижується або зовсім не проявляється їх функціональна активність. Рівні антиоксидантів у корі головного мозку характеризуються низькими величинами, що робить мозок дуже вразливим до дії вільних радикалів

Предметом дослідження були біохімічні показники розвитку окисного стресу в умовах десинхронозу, поліпептидний склад та вміст філаментної форми ГФКБ в мозочку, гіпокампі та корі великих півкуль головного мозку. Експерименти проводили на щурах лінії Вістар (18-22 місяців) масою 260-340 г. 1 група (n=12), контрольна, утримувалися в умовах постійної температури і контрольованої довжини світлового дня (12 год./12 год. – освітлення/темрява); 2 експериментальна група утримувалася в умовах постійного освітлення 250 люкс впродовж 10 діб; 3 експериментальна група утримувалися в умовах постійного освітлення 250 люкс і одержувала ін'єкцію розчину мелатоніну (10 мг/кг). Тривалість екс-

перименту – 10 діб. Перекисне окиснення ліпідів визначали за кількістю ТБК-реактивних сполук. Активність каталази визначали за наявності молібдату. Вміст відновленого глутатіону визначали методом Елмана. Для визначення специфічних білків використовували імуноблотинг та імуногістохімію.

Вміст кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів у відділах мозку щурів 2 групи був вірогідно вище показників контролю на 41% у корі великих півкуль, у гіпокампі – 41%, мозочку – 27%. Активність супероксиддисмутази була нижчою у всіх відділах мозку експериментальних тварин, порівняно з тканинами контрольних тварин на 47%. Активність каталази тварин 2 групи знизилася на 40,2%, 40,5% і 29,4% ($P < 0,05$) у гіпокампі, мозочку і корі великих півкуль головного мозку відповідно. Вміст GSH був вірогідно нижчим у тварин дослідної групи у корі великих півкуль на 24,06% ($P < 0,05$), гіпокампі на 22,1% ($P < 0,05$) та мозочку 17,45% ($P < 0,05$) порівняно з контролем. Несприятливі впливи різної природи індують характерну клітинну відповідь глії, зокрема, астроцитів – астрогліоз. Астрогліоз, в свою чергу, характеризується посиленням синтезом ГФКБ та перебудовою проміжних філаментів. При десинхроні спостерігається підвищення ГФКБ у мозочку – на 72%, гіпокампі – на 94 %, корі великих півкуль – на 45% у порівнянні з контрольною групою. Результати імуногістохімічного дослідження зрізів мозку старих тварин повністю узгоджуються з результатами імуноблотингу і підтверджують розвиток астрогліозу за умов десинхроні.

Таким чином, за умов десинхроні у мозку піддослідних старих тварин виявлено розвиток окисного стресу, що стало першопричиною ушкодження нервових клітин у різних відділах нервової системи. При введенні мелатоніну всі показники, які змінювалися при окисдаивному стресі, поверталися до норми, що свідчить про його ефективну антиоксидантну дію у мозку старих тварин.

**Наконечна О. А., Абрамова Л. П., Безродна А. І.,
Стабровський С., Коцур В., Кучеренко І., Новікова Д.**
ВПЛИВ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН НА NO-СИНТАЗНУ
ОКИСЛЮВАЛЬНУ СИСТЕМУ В ПІДГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ

*Харківський національний медичний університет
пр. Науки, 4, Харків, 61022, Україна
e-mail: bezrodnaya.ai@gmail.com*

Антропогенна діяльність людини призвела до накопичення у навколишньому середовищі поверхнево-активних речовин (ПАР), яким в різній мірі властива біологічна активність. Вивчення біохімічних механізмів дії ПАР та розробка заходів захисту населення від шкідливих факторів довкілля є актуальною проблемою медичної біохімії. Одним із важливих аспектів цієї проблеми є визначення ролі та метаболізму NO-синтазної системи в умовах токсифікації ПАР. Відомо, що газоподібний хімічний медіатор NO відіграє універсальну роль у регуляції фізіологічних функцій систем організму.

Метою роботи є вивчення активності NO-синтазної окислювальної системи при токсичному впливі ПАР – олігоєфірів («Лапролів» Л-3603-2-12 (поліоксипропіленоксид тилентриол) і Л-10002-2-80 (поліоксиетиленоксипропілендіол)), поліетиленгліколю – 400 (ПЕГ-400) та етиленгліколю (ЕГ) в умовах підгострого токсикологічного експерименту.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проведено на білих щурах лінії WAG тривалістю 45 діб. Тварини знаходилися в стандартних умовах віварію. Дослід проведений на п'яти групах тварин: контрольній та чотирьох дослідних в кількості по 10 тварин у кожній. Водні розчини ПАР щоденно натщесерце внутрішньошлунково вводилися в дозі 1/10 ДЛ₅₀ за допомогою металевого зонду. Контрольна група щурів отримувала

відповідні об'єми питної води. Утримання та спостереження за тваринами проводились у відповідності з положеннями «Загальноетичних принципів експериментів на тваринах», які узгоджені Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та науковою метою» (Страсбург, 1986). Оцінка активності NO-синтазної системи включала контроль вмісту в сироватці крові оксиду азоту (NO), нітритів (NO_2^-), нітратів (NO_3^-) після закінчення підгострої токсифікації щурів. Дослідження виконано за допомогою біохімічного аналізатора Lab Line – 80 (Австрія) та наборів реагентів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна).

Результати дослідження і їх обговорення. Аналіз засвідчив, що по завершенню підгострого експерименту досліджувані речовини значно підвищували активність NO-синтазної метаболічної системи порівняно з контрольною групою тварин.

Так, у сироватці крові тварин, які отримували Л-3603-2-12 та Л-10002-2-80 рівень NO підвищувався у 2,16 та 2,0 рази відповідно. Рівень NO_2^- підвищувався порівняно з контролем у 2,36 рази та 2,19 разів відповідно для тварин, які отримували Л-3603-2-12 та Л-10002-2-80. Рівень NO_3^- також підвищувався після токсифікації дослідних тварин «Лапролами» у 1,98 та 1,79 рази відповідно для Л-3603-2-12 та Л-10002-2-80.

Характер впливу ПАР ПЕГ-400 та ЕГ на вміст у сироватці крові щурів NO, NO_2^- , NO_3^- був схожим. Спостерігалось зростання в 2,58 та 2,65 рази, порівняно з контрольною групою тварин, рівня NO після токсифікації ПЕГ-400 та ЕГ відповідно. Рівень NO_2^- підвищувався в сироватці крові дослідної групи тварин, які отримували ПЕГ-400 та ЕГ у 2,46 та 2,53 рази. Тенденція зростання спостерігалась і для нітритів – у 2,32 та 2,48 рази відповідно після токсифікації ПЕГ-400 та ЕГ. Слід зазначити, що це підвищення було дещо вищим порівняно з впливом лапролів Л-3603-2-12 і Л-10002-2-80.

Висновок. Встановлено, що в процесі підгострого токсикологічного експерименту на щурах ПАР Л-3603-2-12, Л-10002-2-80, ПЕГ-400, ЕГ у дозі 1/10 ДЛ_{50} підвищують активність NO-синтазної окислювальної системи, а саме рівні оксиду азоту, нітритів, нітратів у сироватці крові, порівняно з контрольною групою тварин, що свідчить про істотну активацію вільнорадикального окислення в організмі дослідної групи тварин.

Стогній Є.^{1,3}, Нідялкова Н.², Чернишенко В.¹

РОЛЬ С-КІНЦЕВИХ ДІЛЯНОК α C-РЕГІОНУ ФІБРИНОГЕНУ В АГРЕГАЦІЇ ТРОМБОЦИТІВ

¹ Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України
вул. Леонтовича, 9, м. Київ, 01030, Україна

² Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ

³ Київський національний університет імені Тараса Шевченка
e-mail: stogniyevgen@gmail.com

Stohniy E., Nidialkova N., Chernyshenko V. THE ROLE OF FIBRINOGEN α C-REGION IN PLATELET AGGREGATION. Fibrinogen α C-regions ($\text{A}\alpha$ 220-610) are involved in fibrin polymerization and can take part in platelet aggregation interacting with GPIIb/IIIa-receptors through RGD-residue (α 572-574). The aim of present work was to investigate the role of particular parts of α C-region of fibrinogen in platelet aggregation with the use of proteases with different specificity. It was demonstrated that fibrinogen residues located in $\text{A}\alpha$ 407-504 could participate in platelet aggregation of in the stabilization of fibrinogen structure needed for effective support of platelet aggregation.

До α C-регіону належить С-кінцева ділянка $\text{A}\alpha$ -ланцюга фібрин(оген)у $\text{A}\alpha$ 220-610. Показано, що ці послідовності беруть участь у процесі полімерації фібрину та здатні

взаємодіяти з GPIIb/IIIa-рецептором тромбоцитів завдяки RGD-послідовності (α 572-574). Метою роботи було вивчення ролі окремих ділянок α C-регіонів фібрин(оген)у в процесі агрегації тромбоцитів з використанням протеїназ, специфічних до різних ділянок α C-регіонів.

Форми фібриногену, позбавлені C-кінцевих ділянок α C-регіонів різної довжини, отримували за допомогою протеїназ із культурального середовища *Bacillus thuringiensis* var *israeliensis* та з отрути *Agkistrodon halys halys*. Продукти гідролізу характеризували методом гель-електрофорезу в ПААГ та наступним вестерн-блот аналізом з використанням моноклональних антитіл II-5C та I-5A, специфічних до A α 20-78 та A α 504-610 відповідно. Маса відщеплюваних протеїназами фрагментів обчислювали за допомогою денситометричної програми Totallab TL100. Агрегацію відмитих тромбоцитів за присутності різних форм фібриногену вивчали за допомогою агрегометра Solar 2110.

Було показано, що протеїнази із культурального середовища *Bacillus thuringiensis* var *israeliensis* та з отрути *Agkistrodon halys halys* вибірково відщеплюють від C-кінця A α -ланцюга фібриногену поліпептиди з молекулярною масою 12 та 20 кДа відповідно. Їхнє застосування дозволило отримати фібриноген-316 та фібриноген-300. Показано, що ступінь агрегації тромбоцитів за присутності фібриногену-316 знижується на 21 %, за присутності фібриногену-300 – на 63 %, порівняно з контролем. Швидкість агрегації за присутності фібриногену-316 не змінюється, а за присутності фібриногену-300 – знижується на 40 % порівняно з контролем.

Обидві досліджувані форми фібриногену було позбавлено RGD-послідовності (α 572-574). Оскільки α C-регіони фібриногену не мають інших відомих центрів зв'язування з GPIIb/IIIa-рецептором, очікувалось, що обидві форми фібриногену будуть рівноцінно підтримувати агрегацію тромбоцитів. Попри це, агрегація за присутності фібриногену-320 виявилася значно ускладненою.

Послідовності фібриногену, які знаходяться в межах A α 407-504 можуть мати центри зв'язування з тромбоцитами, або ж бути важливими для стабілізації структури молекули фібриногену, необхідної для підтримки агрегації тромбоцитів.

Подяки. д.б.н. Л.Д. Варбанець за допомогу в процесі отримання та характеристики протеїнази із культурального середовища *Bacillus thuringiensis* var *israeliensis*. Проф. Т.М. Платоновій за допомогу у отриманні протеїнази з отрути *Agkistrodon halys halys*. Проф. Е.В. Луговському і к.б.н. І.М. Колесниковій за допомогу з вибором антитіл, використаних у дослідженні.

Стрільбицька Х., Семків М., Дудок К.

СКРИНІНГ НЕКОНВЕНЦІЙНИХ ДРІЖДЖІВ ЗДАТНИХ ДО ПРОДУКЦІЇ ЕТАНОЛУ З ГЛІЦЕРИН-ВМІСНИХ ВІДХОДІВ ВИРОБНИЦТВА БІОДИЗЕЛЮ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: skhristinka@yandex.ru

Strilbytska K., Semkiv M., Dudok K. SCREENING OF NONCONVENTIONAL YEASTS ABLE TO PRODUCE ETHANOL FROM GLYCEROL CONTAINING BIO-DIESEL WASTES. The rapid development of biodiesel production technology has led to the generation of tremendous quantities of glycerol wastes, as the main by-product of the process. Glycerol represents an excellent Carbon source for numerous bioconversions, whereas its greater degree of reduction offers the opportunity to obtain reduced chemicals like succinic acid, ethanol, and hydrogen, at higher yields than those obtained using sugars. Therefore, we tested the ability of various yeast on ethanol production during alcoholic fermentation on the medium containing

biodiesel-derived waste and adapted the yeast *Pichia pastoris* to growth on this media. Thus, the production of ethanol during alcoholic fermentation processes on the medium of biodiesel-derived waste is 0.11 – 2.21 g/l. After adaptation of *P. pastoris* to growth on medium YP, which contained biodiesel-derived waste glycerol, ethanol production increased and amounted 3.94 g/l.

Біодизельне паливо – це екологічно чистий вид палива, який одержують із жирів рослинного і тваринного походження та використовують як заміну нафтового дизельного палива. Воно є сумішшю метилових (етилових) ефірів насичених і ненасичених жирних кислот.

Гліцерин є основним побічним продуктом при виробництві біодизелю і отримується у високих концентраціях у масовому співвідношенні 1/10 (гліцерин/біодизель). Зростання виробництва біодизелю приводить до збільшення виробництва гліцерину і, як результат, перенасичення світового ринку гліцерином. У результаті, ціни на гліцерин зазнали суттєвого зниження, а заводи по виробництву біодизелю шукають можливості реалізації гліцерину, який дедалі частіше переходить до категорії невикористаних відходів.

Перспективним підходом є використання гліцерину як субстрату для культивування мікроорганізмів. При цьому можна отримувати широкий спектр продуктів залежно від продуцента та умов проведення процесу. Перевагами такого гліцерину перед традиційними вуглецевими субстратами (глюкоза, сахароза, крохмаль тощо) є низька вартість та доступність у великій кількості. Це дає змогу отримувати прості сполуки (сукцинат, етанол, пропіонат, водень та ін.) з більшим виходом, ніж за використання вуглеводів.

Метою роботи було перевірити здатність різних дріжджів до продукції етанолу під час ферментації на середовищі, що містить відходи виробництва біодизелю, а також адаптувати дріжджі *Pichia pastoris* до росту на цьому середовищі.

У роботі використовували штами дріжджів, які належать до родів *Hansenula*, *Pichia*, *Sporopachydermia*, *Debaryomyces*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Trigonopsis*, *Yarrowia*. Клітини дріжджів вирощували на середовищі YP, змішаному з гліцериновою фракцією, отриманою після виробництва біодизелю (частка цієї фракції становила 1/10 або 1/20 загального об'єму середовища) при температурі 30 °C чи 37 °C впродовж 7 діб.

Було показано, що на агаризованому середовищі, що містить відходи виробництва біодизелю (1/10), здатні рости лише дріжджі видів *P. pastoris*, *Pichia stipitis* та *Sporopachydermia lactativora*. Продукція етанолу під час алкогольної ферментації на середовищі з відходами виробництва біодизелю залежала від вмісту середовища, виду дріжджів, часу культивування та становить 0,11 – 2,21 г/л. У середовищі з об'ємною часткою відходів 1/10 найкраще продукували етанол дріжджі *P. pastoris*, синтезуючи до 1,811 г/л етанолу на 9 добу культивування. Після адаптації *P. pastoris* до росту на середовищі YP, що містило гліцеринову фракцію відходів виробництва біодизелю, продукція етанолу зростала і становила 3,94 г/л.

Сушко О., Іскра Р., Климець Г.

ДІЯ ЦИТРАТУ ВАНАДІЮ НА АКТИВНІСТЬ КАТАЛАЗИ,
СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ ТА ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТДЕГІДРОГЕНАЗИ
У СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗАХ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО
ІНДУКОВАНИМ ДІАБЕТОМ

Інститут біології тварин НААН
вул. В.Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна
sushko.ola@gmail.com

Sushko O., Iskra R., Klymets H. THE EFFECT OF THE VANADIUM CITRATE ON
THE ACTIVITY OF CATALASE, SUPEROXIDE DISMUTASE AND GLUCOSE 6-PHOS-

PHATE DEHYDROGENASE IN THE SKELETAL MUSCLES OF RATS WITH EXPERIMENTALLY INDUCED DIABETES. The results showed the stabilizing effect of the vanadium citrate on the activity of catalase, superoxide dismutase and glucose-6 phosphate dehydrogenase in the skeletal muscles of rats with aloxan induced diabetes. Therefore, it reduces the hyperglycemia and the oxidative stress, which are symptoms of diabetes mellitus.

Цукровий діабет – це ендокринне захворювання, що характеризується метаболічними розладами вуглеводів, жирів та білків [Mingxia Xie et al., 2014]. Основним симптомом цукрового діабету є гіперглікемія, що є результатом впливу активних форм кисню та стимулює розвиток оксидативного стресу в організмі. Скелетні м'язи є основним місцем поглинання глюкози з кровотоку (близько 75-80%) при підвищеній секреції інсуліну [Stump et al., 2006]. Резистентність м'язів до інсуліну є одним із недоліків цукрового діабету [DeFronzo and Tripathy, 2009]. Встановлено, що ряд неорганічних сполук, а саме, солі ванадію, імітують ефекти інсуліну. За наявності ванадію (V) стимулюється транспорт глюкози і її метаболізм у скелетних м'язах, що обумовлено регулюючим транспортером GLUT-4 [Paquet et al., 1992].

Метою досліджень було з'ясувати дію різних кількостей органічної сполуки цитрату ванадію на активність каталази (КТ), супероксиддисмутази (СОД) та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) в тканинах м'язів щурів із алоксан індукованим діабетом.

Дослідження проведені на 40 білих лабораторних щурах, які перебували в умовах віварію, масою тіла 100-120 г та були розділені на п'ять груп: I-група – контрольна, II, III, IV і V – дослідні. Тваринам I і II груп давали пити чисту воду без добавок, а III-V груп впродовж місяця до питної води додавали розчин цитрату ванадію в кількостях 0,125, 0,5 і 2,0 мкг V/мл води. У тварин усіх чотирьох дослідних груп на тлі 24-ох годинного голодування був викликаний експериментальний цукровий діабет шляхом внутрішньоочеревинного введення 5 % розчину моногідрат алоксану («Синбіас») з розрахунку 150 мг/кг маси тіла. Гіперглікемію контролювали шляхом вимірювання концентрації глюкози у крові. На 40 добу досліджень тварин виводили з експерименту шляхом забиття за легкого наркозу. Матеріалом для дослідження були гомогенати скелетних м'язів щурів, у яких визначали активність антиоксидантних ензимів та Г-6-ФДГ.

Аналізуючи результати досліджень було встановлено, що підвищення рівня глюкози у тварин II групи на 48 %, стосовно контролю, свідчить про розвиток гіперглікемії. Крім цього, у тварин з експериментально індукованим діабетом знижувалася активність СОД в скелетних м'язах тварин, що зумовлене її неензиматичним глікозилюванням [Стефанов и др., 2004]. При дослідженні активності КТ та Г-6-ФДГ за гіперглікемії у тварин II групи простежується достовірне зниження активності ензимів відповідно на 34 і 26%, відносно контролю.

За умов споживання щурами розчину цитрату ванадію в кількості 0,125 і 0,5 мкг V/мл, було виявлено зниження активності КТ і СОД відносно I групи. У той же час, за дії цієї сполуки в кількості 2 мкг V/мл спостерігалася достовірне підвищення активності СОД і КТ, відповідно на 47 і 40 %, відносно II групи та наближення їх рівня до показників I групи. Це свідчить про стимулюючий вплив цієї дози ванадію на активність ензимів АОС за гіперглікемії. Активність Г-6-ФДГ у скелетних м'язах тварин за дії цитрату ванадію в кількостях 0,5 і 2 мкг V/мл підвищувалася, відповідно на 27 і 29 %, відносно II групи та наближалася до рівня показників у тварин контрольної групи. Отримані результати свідчать про стабілізуючий вплив цитрату ванадію, в кількостях 0,5 і 2 мкг V/мл води, на активність досліджуваних ензимів у скелетних м'язах щурів за діабету.

**Тершак С.¹, Горбулінська О.¹, Нагалєвська М.¹, Гачкова Г.¹,
Міщенко Л.², Сибірна Н.¹**

**ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ ЛИСТЯ ЯКОНА
НА СТАН ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ РІВНОВАГИ ЕРИТРОЦИТІВ
ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1-ГО ТИПУ**

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64/13, Київ, 01601, Україна
e-mail: Sof.Tershak@gmail.com

**Tershak S.¹, Horbulinska A.¹, Nagalievskaya M.¹, Hachkova H.¹, Michenko L.²,
Sybirna N.¹ YACON'S LEAVES EXTRACT INFLUENCE ON ERYTHROCYTES
PROOXIDATIVE-ANTIOXIDANT BALANCE UNDER THE CONDITION OF EXPERI-
MENTAL DIABETES MELLITUS TYPE 1. The input of the extract from the yakon's leaves to
animals with experimental diabetes first type leads to increased activity of antioxidant enzymes:
superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase.**

Оксидативний стрес при різних патологічних процесах супроводжується виснаженням внутрішніх резервів організму. Для нівелювання його впливу використовуються антиоксиданти, які в процесі їх захисного впливу виводяться з організму і тому завжди існує необхідність відновлювати їх кількість з продуктами харчування, фармацевтичними чи рослинними препаратами. Перспективною рослинною сировиною зі значним антиоксидантним потенціалом є якон (*Smallanthus sonchifolius* Poir. & Endl.).

Метою роботи було дослідити вплив водного екстракту листя якону в дозі 70 мг/кг на стан системи антиоксидантного захисту еритроцитів щурів за умов стрептозотоциніндукованого цукрового діабету 1-го типу.

Для дослідження використовували листя якона, з яких виготовляли водний екстракт шляхом настоювання окремих частин рослини у воді у співвідношенні 1:10 у два послідовні етапи: 15 хв при температурі 100 °С і 45 хв при 20 °С. Отриманий екстракт фільтрували і упарювали у вакуумі при температурі 60-65 °С. Для досліджень використовували водний розчин випареного екстракту якона, який продовж 14 днів вводили тваринам *per os* за допомогою зонда у дозі 70 мг/кг маси тіла тварини.

Досліди проводили на безпородних щурах-самцях вагою 130-180 г, яких було розподілено на 4 групи: 1) контрольні тварини; 2) контрольні тварини, яким вводили водний екстракт листя якона; 3) тварини з ЕЦД; 4) тварини з ЕЦД, яким вводили водний екстракт листя якона.

Розвиток цукрового діабету супроводжувався порушенням роботи ферментативної ланки антиоксидантного захисту, зокрема встановлено зниження активності супероксиддисмутази на 58,39 %, каталази на 40,93 % та глутатіопероксидази на 30,60 %. При введенні водного екстракту листя якона тваринам з досліджуваною патологією відмічено зростання активності ферментів антиоксидантного захисту: супероксиддисмутази, каталази та глутатіопероксидази. Встановлені зміни свідчать про те, що антиоксидантні властивості водних екстрактів листя якона можуть бути обумовлені високим вмістом біологічно активних сполук, які володіють антиоксидантними властивостями. Такими можуть бути представники поліфенолів, а саме протокатехова, хлорогенова, кафоева, ферулова та розмаринова кислоти.

Фітьо А., Сабадашка М., Нагалєвська М., Сибірна Н.

**ПРОЦЕСИ НІТРУВАННЯ АКТИНУ В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ ЩУРІВ
ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1-ГО ТИПУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: anastasiiafito@gmail.com*

Fito A., Sabadashka M., Nagalievskaya M., Sybirna N. THE PROCESSES OF ACTIN NITRATION IN RATS' LEUKOCYTES UNDER EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS TYPE 1. It was shown that fMLP stimulation causes changes in an electrophoretic mobility of proteins in leukocytes of healthy animals. However, it was not true for rats' leukocytes under experimental diabetes. This may indicate a violation of functional state of the immune cells under studied pathology. Also, it was found that fMLP stimulation of leukocytes under the conditions of diabetes tends to increase the content of nitrated actin by tyrosine residues. The consequence of this may be a disruption of actin polymerization and depolymerization processes. Due to oxidative/nitrative stress under diabetes mellitus conditions the nitration of actin occurs in large quantities, which is one of the main factors of functional disorders of leukocytes activity.

Цукровий діабет 1-го типу є поширеним аутоімунним захворюванням обміну речовин; кількість хворих з цією патологією становить близько 4–5 % населення у розвинених країнах світу. Цукровий діабет є основою для розвитку складних супутніх захворювань та ускладнень, ранньої інвалідності та смертності. Відомо, що тривала гіперглікемія посилює утворення у клітинах вільних радикалів, зокрема пероксинітриту. Згідно з літературними даними, внаслідок ONOO⁻-опосередкованого нітрування актину за залишками тирозину, виникає ряд дисфункцій, що призводить до зміни динаміки полімеризації актину, а також порушення сигнальних процесів, ланкою яких є фосфорилування цього білка.

Метою роботи було дослідити зміни вмісту нітротирозин-модифікованого актину в лейкоцитах щурів за умов цукрового діабету 1-го типу, за допомогою виявлення змін електрофоретичної рухливості протеїнів у разі стимуляції лейкоцитів fMLP у нормі та за умов патології та оцінки рівня нітрованого актину методом Вестерн-блот аналізу за умов експериментального цукрового діабету 1-го типу.

Нами встановлено, що при стимуляції імунокомпетентних клітин контрольних тварин бактерійним трипептидом впродовж 30 с, 1 та 5 хв змінюється електрофоретична рухливість протеїнів, на що вказує поява бендів, що відповідають білкам з молекулярною масою 42 кДа, нехарактерних для клітин без стимуляції. У разі цукрового діабету таких змін на електрофореграмах виявлено не було. На наступному етапі наших досліджень методом ультрацентрифугування було виділено актин лейкоцитів периферичної крові. Також встановлено, що при стимуляції лейкоцитів тварин з експериментальним цукровим діабетом має тенденцію до зростання вміст актину нітрованого за залишками тирозину. Такі зміни можуть бути залученими у розвиток негативних змін функціонального стану імунокомпетентних клітин за умов досліджуваної патології, до прикладу у порушення процесів активації після потрапляння патогенів у організм хворих через діабет індукованого порушення процесів полімеризації та деполімеризації актину.

Отримані результати свідчать про те, що внаслідок оксидативно-нітративного стресу, який супроводжується надпродукцією активних форм оксигену та нітрогену за умов цукрового діабету посилюється нітрування актину, що, ймовірно, є одним з основних чинників порушень функціональної активності лейкоцитів. З'ясування особливостей нітрування актину за залишком тирозину є важливим для пошуку нових діагностичних та терапевтичних підходів за умов досліджуваної патології.

Хітровська Л., Гачкова Г., Сибірна Н.

**ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ *GALEGA OFFICINALIS* L.
НА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ БАЛАНС ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ
ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: khitrovska19@gmail.com*

Hitrovska L., Hachkova H., Sybirna N. EFFECT OF *GALEGA OFFICINALIS* L. EXTRACT ON PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN PANCREAS UNDER THE EXPERIMENTAL DIABETES. Application of non-alkaloid fraction of *Galega officinalis* extract in the dose of 0.6 g/kg validity of protective carries on the key components of the antioxidant system in the cells of the pancreas. Established biological effect mediated by the ability of biologically active compounds of this extract (phytol, flavonoids, vitamin E) to inhibit the oxidative processes and regulate the activity of key enzymes of the antioxidant system.

Нашими попередніми дослідженнями доведено цитопротекторний вплив безалкалоїдної фракції екстракту козлятника лікарського (*Galega officinalis* L.) (БФЕКЛ) на морфофункціональний стан клітин підшлункової залози на стрептозотоциновій моделі, яка відображає умови їхньої життєдіяльності при цукровому діабеті [Hachkova H. et al., 2016]. Не виключено, що коригуючий вплив екстракту козлятника лікарського зумовлений його здатністю попереджати оксидативний стрес за досліджуваної патології.

Метою роботи було з'ясувати вплив БФЕКЛ на показники, що характеризують ступінь розвитку оксидативного стресу в клітинах підшлункової залози щурів у нормі та за умов експериментального цукрового діабету (ЕЦД).

ЕЦД індукували внутрішньочеревним введенням стрептозотоцину з розрахунку 5,5 мг (у 10 мМ цитратному буфері, pH 5,5) на 100 г маси тіла тварини. Через два тижні після індукції ЦД, тваринам раз на добу *per os* вводили БФЕКЛ у вигляді водної емульсії (у дозі 0,6 г на 1 кг маси тіла тварини, в об'ємі 1 мл води впродовж 14 діб). Отримання БФЕКЛ та аналіз її компонентного складу описано у роботах [Хохла М. та ін., 2013; Сибірна Н. та ін., 2015]. Вміст ТБК-позитивних продуктів визначали згідно методики [Тимирбулатов Р., 1981], активність супероксиддисмутази (СОД) (КФ 1.15.1.1) – [Чевари С. і др., 1991], каталази (КФ 1.11.1.6) – [Королюк М. і др., 1988], глутатіонпероксидази (ГПО) (КФ 1.11.1.9) – [Моин В., 1986].

Аналіз отриманих результатів показав зниження вмісту відновленого глутатіону (на 59,92 %) та активності ГПО (на 40 %) у підшлунковій залозі тварин з ЕЦД. Пригнічення активності ГПО за досліджуваної патології призводить до інтенсифікації процесів перекисного окиснення ліпідів, про що свідчить підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів (на 11,75 % щодо контролю). Водночас нами встановлено зниження активності СОД (на 27,6%) і каталази (на 20,3 %) за умов ЕЦД, що є компенсаторною реакцією організму у відповідь на виникнення оксидативного стресу. Ми припускаємо, що за умов цукрового діабету відбувається індукція експресії редокс-чутливих генів СОД і каталази у підшлунковій залозі, і як наслідок – активація біосинтезу ізоформ цих ферментів, які хоча каталітично менш активні, проте, більш резистентні до дії активних форм кисню. При введенні БФЕКЛ тваринам з ЕЦД встановлено вірогідне підвищення активності каталази (на 61,18 %), ГПО (на 4,85%) та вмісту відновленого глутатіону (на 16,01 %) у гомогенатах підшлункової залози, що супроводжувалося істотним зниженням вмісту ТБК-позитивних продуктів.

Таким чином, БФЕКЛ виявляє цитопротекторний вплив на структурно-функціональний стан підшлункової залози за умов ЕЦД регулюючи прооксидантно-антиоксидантний баланс клітин. Встановлений біологічний ефект екстракту зумовлений наявністю у його складі сполук з підтвердженими антиоксидантними властивостями (фітол, флавоноїди вітамін Е).

Чорненко Н., Расцька Я., Савчук О.

**РІВЕНЬ МАТРИКСНИХ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ
ЛУЖНОМУ ОПІКУ СТРАВОХОДУ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ МЕЛАНІНУ**

*Навчально науковий центр «Інститут біології та медицини»
Проспект академіка Глушкова 2/12, Київ, 0312, Україна
e-mail: nata.chornenka24@gmail.com*

Chornenka N., Raetska Ya., Savchuk O. LEVEL OF THE MATRIX METALLOPROTEINASES IN THE BLOOD SERUM OF RATS AFTER ALKALINE BURN OF THE ESOPHAGUS UNDER ADMINISTRATION OF MELANIN. It was investigated the contents of the matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP-1) at the alkaline burn of the esophagus at the second stage and under condition of the administration of antioxidant drug melanin at a dose of 1 mg / kg. For burn was observed increase of level MMPs and decrease TIMP-1. Administration of the melanin helped normalize these indicators.

Опікова рана схильна до хронізації у зв'язку з довготривалим запальним процесом та високою протеолітичною активністю. У місця хронічного запалення мігрують нейтрофіли, які секретують желатинази і еластази, що призводить до надмірної деградації екстрацелюлярного матриксу. Саме матриксні металопротеїнази (ММП) та їх інгібітори (ТІМП) виконують ключову роль у забезпеченні реепіталізації в ході загоєння опікових ран.

У зв'язку з цим, метою нашого дослідження було вивчення можливого впливу меланіну на вміст ММП та ТІМП при моделюванні хімічного лужного опіку стравоходу (ЛОС) другого ступеня.

У роботі дотримувались загальних етичних принципів експериментів на тваринах. Досліди проводили на білих нелінійних статевонезрілих щурах (1-місячних) масою 90 — 110 г (що відповідає 1-4-річному віку дітей). Опік моделювали 20 % розчином NaOH, що відповідає 2-му ступеню опіку. Тварин утримували на стандартному раціоні віварію. Тварин було поділено на групи: 1 – контрольна; група 2 – щури, яким моделювали ЛОС 2-го ступеня, яким вводили фізіологічний розчин у відповідній дозі та терміни (опік-контроль); група 3 – щури з ЛОС 2-го ступеня, яким вводили меланін починаючи з 2-ї доби експерименту в дозі 1 мг/кг протягом 14 днів. Продуцентами меланіну, використаного у наших дослідженнях, були дріжджеподібні гриби *Nadsoniella nigra* штам X1, що висіяні із зразків вертикальних скель о. Галіндез. Методом виведення тварин із досліді була цервікальна дислокація. Рівень матриксних металопротеїназ визначали у сироватці крові тварин, яку отримували для дослідження на 7, 15 та 21 добу. Рівень ММП та ТІМП у крові визначали за допомогою методу імуноферментного аналізу (ELISA). Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики з використанням комп'ютерної програми Excel. Для визначення достовірності відмінностей між двома вибірками використовували критерій Стьюдента (t). При цьому достовірними вважались різниці $P < 0,05$.

Показано, що при ЛОС 2 рівень ММП 8 підвищувався на 7 та 21 добу на 40 % та 36,4 % відповідно порівняно з контролем, при введенні меланіну показник знижувався на 7 добу на 23,4 %, на 15 добу на 9,3 % порівняно з ЛОС 2. Рівень ММП 9 за умов ЛОС 2 зростав на 7, 15 та 21 добу на 52,5 %, 72,5 % та 87,5 % порівняно з контролем, при введенні меланіну вміст ММП 9 знижувався на 21 добу на 16 % порівняно з ЛОС 2. Вміст ММП 2 при опіку на 7 добу знижувався на 11,5 % а на 21 добу зростав на 30,4 %, при введенні меланіну показник знижувався на 21 добу на 29,2 % порівняно з ЛОС 2. Рівень ТІМП при опіку знижувався на 15 та 21 добу на 21,7 % та 13 % порівняно з контролем, при введенні меланіну показник підвищувався на 15 та 21 добу на 22,2 % та 16,7 % порівняно з ЛОС 2.

Таким чином, при опіку стравоходу спостерігалось підвищення рівня ММП та зниження вмісту ТІМП-1. Введення меланіну сприяло зниженню рівня досліджуваних ММП та підвищувало вміст ТІМП 1.

Шелест Д.¹, Колотій О.¹, Худякова О.², Гарманчук Л.¹, Комаров І.¹

**ЦИТОТОКСИЧНИЙ/ЦИТОСТАТИЧНИЙ ВПЛИВ ФОТОАКТИВНИХ РЕЧОВИН
НА РАКОВІ КЛІТИНИ *IN VITRO***

¹ Київський національний університет імені Тараса Шевченка

² ЛНУ імені Тараса Шевченка (м. Старобільськ)

вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01033, Україна

e-mail: diemondos@gmail.com

Shelest D., Kolotii O., Khudiakova O., Garmanchuk L., Komarov I. CYTOTOXIC/CYTOSTATIC INFLUENCE OF PHOTOACTIVE SUBSTANCES ON CANCER CELLS IN VITRO In experiments were used decapeptide Gramicidin C and peptidomimetics (photosensitive modification, open and closed form). The data indicate promising photoactive peptidomimetics use in anticancer therapy that requires continuing further studies to explain the mechanism of action and pharmacokinetics.

Перший етап в дослідженнях потенційної лікарської активності новосинтезованих субстанцій полягає у визначенні їх цитотоксичної/цитостатичної дії. На даному етапі в дослідженнях використовуються культивовані пухлинні клітини різного походження. Останнім часом в центрі уваги дослідників у галузі медичної хімії є фотокеровані біологічно активні сполуки. Сполуки такого типу могли б бути кандидатами на оригінальні лікарські засоби, що вводяться в організм хворого в неактивній, нетоксичній формі, і можуть активуватися видимим або певної довжини світлом в місці ураження.

У досліджах використовували декапептид Граміцидин С та пептидоміметики (фоточутливі модифікації) в двох фотоформах, що можуть взаємообернено переходити одна в одну під дією світла різних дожин хвиль (відкрита та закрита). Для дослідження були використані наступні клітинні лінії: HeLa – рак шийки матки, Colo-205 – карцинома товстого кишечника; МАЕС – ендотеліальні клітини аорти миші. Клітини вносили в 96-лунковий планшет у кількості 100 тис. клітин в лунку та інкубували з препаратами впродовж 24 год. Препарати вносили методом подвійного розведення для визначення індекса IK_{50} . Цитотоксичний/цитостатичний ефект обох фотоформ пептидоміметиків визначали за допомогою стандартного МТТ-колориметричного тесту, як відсоток живих клітин по відношенню до контролю та визначенням індексу IK_{50} [Mosmann, 1983; Alley et al, 1988]. Усі експерименти проводилися при темному світлі, щоб запобігти неконтрольованій фотоізомеризації пептидоміметиків.

При визначенні цитотоксичності/цитостатичності пептидоміметиків обох форм було показано, що індукована світлом форма проявила достовірну цитотоксичну дію на всі клітинні лінії, з розрахованим індексом IK_{50} , що становила приблизно 6 мг/мл, майже так само, як і немодифікований Граміцидин С. Для УФ-індукованої форми індекс IK_{50} був більшим в 5,5-8 разів за таких же умов культивування. Так як ці форми можуть переходити одна в одну під дією світла різних ділянок спектру, ці данні чітко показують, що цитотоксична дія може контролюватися світлом, а саме – «вмикатися» чи «вимикатися» за потреби.

Отримані дані вказують на перспективність використання фотокерованих пептидоміметиків в протипухлинній терапії, що потребує продовження подальших досліджень механізму дії та фармакокінетики.

Ashpin M., Khilko V., Dranitsina, A., Dvorshchenko K.

**EFFECT OF CHONDROITIN SULFATE ON OXIDATIVE-ANTIOXIDANT BALANCE IN
BLOOD SERUM OF RATS WITH ACUTE HIND PAW INFLAMMATION**

Taras Shevchenko National University of Kyiv

60, Volodymyrska Street, Kyiv, Ukraine, 01033

E-mail: nikolay1910@yandex.ua

It is well known that musculoskeletal system diseases, such as osteoarthritis, are one of the main reasons of disability, especially in an aging people group. For a long time osteoarthritis was

considered just as a “wear and tear” disease, associated with the mechanical ruination of cartilage tissue. However, recent studies show that inflammation processes, related with reactive oxygen species generation, also pay an important role in the pathogenesis of osteoarthritis. Therefore, the aim of the research was to study oxidative-antioxidant balance in an experimental model of joint inflammation and under the administration of chondroprotector.

Experiments were conducted on white outbreed male rats (180 – 240 g). Acute inflammation was induced by subplantar injection of carrageenan solution (0.1 ml, 1%) into the right hind paw. The second group of animals was taken an intramuscular injection of chondroprotector “Drastop” (active ingredient chondroitin sulfate) in dose 3 mg/kg. Control group of rats received physiological solution instead.

It was shown that levels of lipid peroxidation products in blood serum of rats during acute hind paw inflammation were increased: diene conjugates – by 62 %, TBA-active products – by 42 %, Schiff bases – by 30 %, compared with control. Also, the level of hydrogen peroxide was grown by 20 % in rats with pathology. We have shown that catalase activity increased under pathology 3,4 times, superoxide dismutase activity – decreased by 8 % compared to control.

We have also found changes in protein oxidative modification products level in rats with pathology. Neutral aldehyde products level increased by 62 %, neutral ketone products – by 69 %, alkaline aldehyde products – by 53 % compared to control. The level of SH-groups also changed in rats with pathology: protein SH-groups content decreased by 41 %, non-protein SH-groups – by 35 % comparative to control. Administration of “Drastop” tended to return most of the studied indexes to control values.

Results of our experiments show that acute local inflammation in hind paw induces rising production of reactive oxygen species, which leads to activation of lipid and protein peroxidation processes and changes antioxidant enzymes activity. Injection of “Drastop” leads to normalization of studied parameters to control levels, that confirms its anti-inflammatory properties.

Chorny S., Shuvayeva G., Kurlishchuk Y., Bobak Y.

THE IMPACT OF ARGININE LIMITATION ON SIGNALING PATHWAYS ASSOCIATED WITH HYPOXIA AND ENERGY BALANCE IN COLON CARCINOMA CELLS

*Institute of Cell Biology, National Academy of Sciences of Ukraine
14/16 Drahomanova Str., 79005, Lviv, Ukraine
E-mail: bobakyaroslav@gmail.com*

Many aggressive cancer types in course of malignant transformation become auxotrophic for arginine. Subsequently, deprivation of arginine with arginine-degrading enzymes has been adopted as a promising anticancer therapy. Reduction of arginine availability alone is not sufficient to eradicate malignant cells in an organism but increases their sensitivity to conventional anticancer drugs with various cytotoxic mechanisms. An alternative approach is to target signaling pathways, which are involved in cancer cell response to arginine limitation and determine cellular sensitivity to the lack of arginine. Thus, the aim of this study was to investigate changes in cell signaling pathways related to hypoxia and energy metabolism in human colon carcinoma cells.

For this purpose, HCT-116 and HT29 cells were incubated in control arginine-replete medium with all sufficient components for cell growth or in the arginine-deplete medium. Hypoxia was induced by 0.1 and 0.2 mM cobalt (II) chloride. The antidiabetic drug metformin in the range of concentrations from 0 to 5 mM was applied to mimic intracellular energy depletion. Cell viability was determined using MTT assay. Gene expression was determined by RT (reverse transcription)-PCR and Western blotting.

Previously, we were first to show that arginine deprivation induced expression of genes involved in endoplasmic reticulum stress response in human cancer cells derived from solid tumors. Some of these genes (i.e. VEGF-A and GRP78) are known to be upregulated in response

to hypoxia. To determine if arginine deprivation induces hypoxia in colon carcinoma cells, we monitored expression of HIF-1 α , a well-known hypoxia marker. It was shown that the level of HIF-1 α mRNA transcript and protein did not differ greatly in HCT-116 and HT29 cells maintained either in arginine-replete or arginine-deplete conditions. Moreover, the addition of hypoxia inducer failed to decrease the viability of the tested arginine-deprived cells. Next, we monitored how induction of energy deprivation stress with metformin affects cancer cell viability under arginine deprivation. Indeed, metformin triggered a cellular energy-deplete status as confirmed with activation of 5' AMP-activated protein kinase (AMPK) and p38 MAP kinase. It also inhibited proliferation of HCT-116 and HT29 cells in complete medium. However, metformin had no cumulative effect on HCT-116 and HT29 cells' proliferation and viability when applied in the arginine-free medium. Thus, we concluded that an additional activation of hypoxia or energy deprivation is ineffective in augmentation of arginine limitation-driven cytotoxicity towards colon carcinoma cells.

Dzydzan O., Sabadashka M., Sybirna N.

THE CONTENT OF 3'-NITROTYROSINE-MODIFIED PROTEINS
OF RATS' PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES UNDER EXPERIMENTAL
DIABETES MELLITUS AND INJECTION OF AGMATINE

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiy St., Lviv, 79005, Ukraine
e-mail: D.Olichka@ukr.net*

The state of phagocytic blood cells is an important indicator of the immune system in conditions of experimental diabetes. Reorganization of the actin cytoskeleton is the main stage that provides the ability of white blood cells to migrate and capture pathogens. Peroxynitrite (ONOO⁻) is the main nitrating agent in biological systems, the content of its increases significantly under the conditions of hyperglycemia. The nitration of tyrosine residues of actin can compete with normal phosphorylation. This process leads to disruption of assembling of actin filaments and reduces the functional activity of leukocytes. It was investigated that agmatine can be an endogenous regulator of NO and consequently ONOO⁻ formation. Therefore, the purpose of the work was to evaluate the effect of agmatine on the level of tyrosine-nitrated proteins in leukocytes of peripheral blood of rats in normal condition and under experimental diabetes. The research was conducted using the leukocytes of rats' blood with and without stimulating by tripeptide fMLP during 30 seconds and 1 minute.

It was shown the increase of nitrated protein at 30 % in leukocytes under experimental diabetes compared to control. In leukocytes of the control group level of nitrotyrosine, modified proteins increased at 41 % after stimulation with fMLP during 1 minute. It was not shown significant changes of studied parameters under experimental diabetes. These data may be associated with a decrease in the number of surface fMLP receptors because of their glycosylation in conditions of hyperglycemia. It was not observed significant changes in the content of nitrated proteins in stimulated leukocytes of animals of the control group after injection of agmatine. Instead after injection of agmatine to animals with experimental diabetes, the nitration of protein decreased at 48 % after stimulation with fMLP during 1 minute.

The obtained results showed that agmatine can help to reduce the level of tyrosine-nitrated proteins in stimulated leukocytes of rats' blood under experimental diabetes. This effect may be associated with bioamin ability to inhibit the NO-synthase enzyme. The effect of agmatine on stimulated leukocytes requires further research.

Kurytsia K., Romanenko M., Shapoval I.**DIET'S FEATURES OF ELDERLY PEOPLE WITH METABOLIC SYNDROME**

*D. F. Chebotarev State Institute of Gerontology, NAMS of Ukraine
67, Vyshhorodska St., Kyiv 04114, Ukraine
e-mail: chrystik96@ukr.net*

Kurytsia K., Romanenko M., Shapoval I. DIET'S FEATURES OF ELDERLY PEOPLE WITH METABOLIC SYNDROME. The metabolic syndrome (insulin resistance syndrome, syndrome X) is a complex metabolic disturbance that occurs in the human body. In many countries, including Ukraine, more than a third of the population over thirty years have this syndrome. Metabolic syndrome can develop gradually and imperceptibly for several years, but its consequences are disastrous for health. Against the background of this syndrome in humans a stroke, heart attack, diabetes, coronary heart disease, hypertension, liver and gastrointestinal tract diseases could develop.

It is known that diet influence metabolic syndrome (MS) development. For features analysis of the aged people diet, we examined 62 people (60-74 years old). The group without abdominal obesity (WAO) included 15 subjects, with abdominal obesity (AO) – 6 subjects, and with MS (IDF, 2005) – 41 subjects. Factual nutrition was examined by a 24-hour recall method for three days. Data are presented by median and interquartile intervals.

Daily consumption of grains (dry weight) in all groups had no significant differences: WAO – 73.0 g (62.8 – 102.3 g), AO – 84.1 g (57.6 – 106.1 g), MS – 76.7 g (45.8 – 111.7 g). However, the consumption of bakery products was higher in the AO group – 230.8 g (196.3 – 285.5 g), than in – WAO – 129.3 g (98.7 – 197.9 g), and MS group – 141.4 g (100.0 – 190.2 g), ($P < 0.05$). Elderly subjects consumed 26 – 34 grams of sugar per day, and if to include confectionery products (10 – 15 g), the daily amount of sugar exceeded the recommended level. A number of dairy products in the diet did not differ in all groups and corresponded with the recommended level: WAO – 231.8 g (123.2 – 310.0 g), AO – 206.0 g (175.3 – 244.0 g), MS – 265.7 g (142.2 – 346.4 g). A rather low consumption of potatoes was revealed in all groups – 86.0 g (57.8 – 111.6 g), 174.2 g (138.2 – 189.2 g) and 123.3 g (86.7 – 162.4 g), respectively. However, in persons with AO and with MS it was significantly higher than in the WAO group ($P < 0.05$). As it's known, the recommended level of fruit and vegetable consumption increased to 500 – 600 g over the past ten years. In contrast, the total consumption of vegetables and fruits was: WAO – 408.7 g (310.9 – 496.8 g), AO – 408.6 g (348.0 – 554.0 g), MS – 354.0 g (237.4-436.5 g). A number of meat products in the diet did not differ significantly – 93.2 g (58.0 – 105.0 g), 117.1 g (102.1 – 152.7 g) and 86.7 g (46.2 – 127.2 g), respectively. Eggs consumption in WAO group was within the recommended level – 6.2 g (2.8 – 19.2 g), and was higher than normal in people with AO – 21.4 g (17.2 – 49.7 g), and in the MS group its quantity, although higher than the recommended, was less than for people with AO – 18.0 g (4.0 – 30.7 g), ($P < 0.05$).

In this way, diet influenced body weight maintenance in elderly people. Greater intake of bread, potatoes, meat products and eggs and an insufficient amount of fruits and vegetables is a contributing factor to the AO. The presence of MS in the elderly is accompanied by a decrease in the consumption of bakery products and meat and potatoes, which can be attributed to a conscious restructuring of their diet. However, lack of awareness in matters of a healthy diet does not allow the elderly to choose the right set of products.

Maletska I.¹, Martyniuk V.¹, Gnatyshyna L.^{1,2}

**ENDOCRINE DISRUPTION IS THE COMMON RESPONSE IN FRESHWATER MUSSEL
UNIO TUMIDUS IN EXPOSURES TO BISPHENOL A AND TiO₂ NANOPARTICLES**

¹ Ternopil National Pedagogical University

Kryvonosa Str 2, 46027 Ternopil, Ukraine

² Ternopil State Medical University

Maidan Voli 1, 46001, Ternopil, Ukraine

e-mail: lesyafoxy@i.ua

Personal care products (PPCPs) are the environmental pollutants of growing concern [Schröder et al., 2016]. The increased usage of these synthetic substances in the casual life and the shortcoming or deprivation of the communal service makes the mixture of PPCPs the most common kind of the waters pollution [Directive 2013/39/EU]. Major expected toxic effect of the water pollution by PPCPs is their activity as endocrine disruptors that are mainly associated with the feminization of male fish [Segner, 2009]. However, the identification of molecular signs of endocrine disruption in the invertebrate species is doubtful [Oehlmann et al., 2007; Falfushynska et al., 2015]. This study was aimed to elucidate whether the common PPCPs Bisphenol A (BPA) and TiO₂ nanoparticles (nTiO₂) in the environmentally friendly concentrations caused the endocrine disruptive effect in freshwater mussels *Unio tumidus*.

Male mussels were subjected to BPA (0.88 nM), nTiO₂ (1.25 µM), their combination (BPA+nTiO₂) and TiCl₄ (Ti, 1.25 µM) during 14 days. The level of vitellogenin-like proteins (Vtg-LP) was determined in the gonads and hemolymph as the alkali-labile phosphate level [Nagler et al., 1987]. The response of biotransformation phase I in the digestive gland was detected from the microsomal ethoxyresorufin-*O*-demethylase (EROD) activity as a common and reliable indicator of the activity of the cytochrome P450 family I (CYP450 I) enzymes involved in steroids metabolism and biotransformation of persistent organic substances [Iwamoto et al., 2012]. The indices of stress and toxicity were evaluated as described in [Falfushynska et al., 2015].

The results had shown the up-regulation of Vtg-LP level both in gonads and hemolymph in all exposures (by up 3.2 times for BPA in gonads) with the exception of BPA-group in hemolymph (decrease by 31.0 %). These results confirm the endocrine disruptive effect of all studied substances and lower validity of Vtg-LP identification in hemolymph. EROD in digestive gland was also up-regulated in all exposures, particularly by BPA+nTiO₂ (by ~3 times). Metal-buffering and stress-related proteins metallothioneins demonstrated the common response – the decrease of their protein and non-metallated form concentration that caused the relative increase in the ratio of metallated /non-metallated forms. All exposures provoked the elevated DNA fragmentation that was correspondent to the activated lipid peroxidation and lipofuscin accumulation but was not correlated with other indices of oxidative damage (protein carbonylation, oxyradicals formation). Some responses were specific to the kind of exposure. BPA *per se* caused the oppression of antioxidant responses determined from the glutathione (GSH and GSSG) concentration and redox index, whereas nTiO₂ up-regulated GSH and GSSG level in the digestive gland by 2 times. Most prominent signs of cytotoxicity were found in BPA and nTiO₂ groups according to the decreased lysosomal membrane stability (by 42.9 %). However, the co-exposure abolished the specific effect of single exposures to BPA and nTiO₂. To summarize, we confirm the endocrine disruptive effect of novel kinds of PPCPs for the freshwater mussels and its accompanying with genotoxicity. The applied methods could be recommended for the bioindication of the toxicity of municipal effluents and control of their purification.

This work has been granted by the Ministry of Education and Science of Ukraine (Projects # 125B, 131B).

Myhalska V., Kubashok Z., Kharchuk A., Stoliar O.

**THE VULNERABILITY OF BIVALVE MOLLUSKS FROM POLLUTED SITES
TO COMBINE EFFECT OF HEATING AND ZINC OXIDE NANOPARTICLES**

V. Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University

M. Kryvonosa Str 2, Ternopil, 46027, Ukraine

e-mail: Oksana.Stolyar@gmail.com; <http://biochemlab.tnpu.edu.ua>

Contemporary environmental challenges are characterized by combined effects of elevated temperature and chemical pollution. The cooling reservoirs of thermoelectric power plants (TPPs) are polluted by industrial effluents and have constantly elevated temperature regime (~ by 5-7°C in comparison with other water bodies in the area). Therefore, the indigenous bivalve mollusks from the cooling reservoirs of TPPs could be regarded as model organisms adapted to the combination of typical novel environmental challenges. Mussels are the main filtrators of surface water, including suspended particles. Therefore, for the present study, we selected the exposure to Zinc oxide nanoparticles (nZnO). nZnO is widely utilized in electronics and personal care products. Its concentration in the surface water in Europe is predicted as high as 100-500 ng/L.

This study aimed to elucidate bioavailability of nZnO for mussels from two ponds of TPPs with different levels of industrial activity. For that, the male mussels from two reservoirs (Dobrotvir and Burshtyn PPs (DTPP and BTPP)) were exposed for 14 days to an elevated temperature (T, 25°C), nZnO (3.1 µM), Zn²⁺ (3.1 µM), or nZnO at 25°C (nZnO+T). Control groups from both sites were held at 18°C for 14 days. The tissues of gills were studied. We determined the concentration of metallothioneins total protein (MT) and Zn-MT according to [Falfushynska et al., 2015], the level of oxyradicals, the activity of multi-xenobiotic families of ABC transporters (p-glycoproteins) in the presence or absence of MXR inhibitors verapamil and cyclosporine A [Ivanina and Sokolova, 2008]. DNA instability was also determined as the level of alkaline DNA precipitation [Olive, 1988] using Hoechst 33342.

Results have shown higher basal levels of Zn²⁺, MT and p-glycoprotein and lower level of oxyradicals in the gills in the mussels from DTPP. The responses to the exposures in the mussels from two ponds were mainly distinct. Mussels from highly polluted BTPP had the lowest tolerance to all tested stressors. The level of Zn-MT was elevated in the DTPP group treated by Zn²⁺ and n-ZnO confirming the bioavailability of Zn from nZnO. However, the heating abolished this effect. Moreover, groups from BTPP did not show the accumulation of Zn²⁺ et al. The responses of MT were the most common and expressed as the misbalance of the total and metallated form (by about fifth times in the DTPP groups). This circumstance could give the preferences to these groups in the antioxidant response due to the elevated activity of thiols in the non-metallated MT [Maret, 2011]. The strong antioxidant activity in the DTPP groups was confirmed by the low level of oxidative injury (decrease in oxyradical level in all groups, except nZnO, exposed mussels from BTPP). P-glycoprotein was activated in the DTPP groups only by nZnO, whereas in the mussels from BTPP it was elevated by all exposures. The increase in the DNA fragmentation was most prominently expressed in the exposed BTPP-groups.

To summarize, the mussels from the DTPP were better adapted to the effect of heating and nZnO and demonstrated the distinct responses in each exposure due to the results of the Principal component analysis, whereas the responses of mussels from BTPP were low dependent on the kind of exposure. Due to this site-related complexity of molecular responses, mechanistic understanding of the role that a population's history plays in the ability to withstand new challenges and the factors of the limitation are critical for the prediction of the health status of the organisms in the contemporary environment.

This work has been granted by the Ministry of Education and Science of Ukraine (Project # 131B).

Oronova A.¹, Voychuk S.², Peretiazhko I.¹

**EXOPOLYMERIC MATRIX COMPOSITION OF SACCHAROMYCES CEREVISIAE
STRAINS DEFECTIVE ON POLYPHOSPHATASES PPN1 AND PPX1**

¹Taras Shevchenko National University of Kyiv

ESC "Institute of Biology and Medicine", Ukraine

²D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the NASU

154 Acad. Zabolotnoho St., 03680, Kyiv, Ukraine

e-mail: svoychuk@hotmail.com

Polysaccharides or glycans, which are polymers composed of sugar residues, are the vital components of all organisms. They are the main structural units of cell walls and extracellular matrix in bacteria, fungi, plants and insects. Their biological and physical properties let to apply them in medicine, cosmetics, and technology. Synthesis of glycans *in vivo* is energy-consuming, and it is known nothing about the role of polyphosphates (polyP) in it. Whereas polyPs are the archaic compounds that perform the function of phosphorus and energy accumulation in all living beings. PolyP is regulatory biopolymers involved in the correction of cell metabolism. The role of polyP in formation and functioning of cell wall was proved but the composition of the cell wall for strains defective on polyphosphatases (polyPases), which are the main enzymes of polyP metabolism, has not been investigated. The main function of polyPases is to remove the phosphorus residues from polyP chains. Released phosphorus residues are used for ATP synthesis.

The aim of this work was to study the role of polyPases PPN1 and PPX1 in an exopolymeric matrix formation process. The strains of *Saccharomyces cerevisiae* yeast were used in the study. *Saccharomyces cerevisiae* C1 was the parental strain, strain C4 had $\Delta ppn1$ and thus was defective on polyPase PPN1, strain C7 with $\Delta ppx1$ was defective on polyPase PPX1, and strain C8, with $\Delta ppn1$ and $\Delta ppx1$, lacked both these polyPases. Sugar residues in the extracellular matrix of the yeast strains were detected with lectin-gold complexes using transmission electron microscopy. The content of D-mannose, D-glucose, D-galactose, N-acetyl-D-glucosamine, N-acetylgalactosamine and sialic acid was assessed.

It was shown that exopolymeric layer that surrounded the yeast cells could achieve 2 mkm of thickness. The content of sugar residues in this layer was different for various yeast strains. A comparison of strains by the similarity of their sugar residues contents let to divide the strains into two groups. The strains C1 and C4 were in the first one, showing the most similarity, while strains C7 and C8 were in the second one. Defectiveness on polyPases led to decreased quantity of sugar residues in the exopolymeric matrix in comparison to the parental strain. For all strains, the most constant values were the quantity and percentage of D-mannose and D-glucose (within 27 – 38 %), while values for other sugar residues varied significantly from strain to strain. Strains C1 and C4 had preferably β -forms of D-mannose and D-glucose and 5-6 times higher content of sialic acid in comparison to other strains (C7 and C8) in which the high content of α -forms of D-mannose and D-glucose and low content of sialic acid were marked.

Thus, it was shown that polyPases, and therefore polyP as well, participate in the formation of the exopolymeric matrix process that surrounds the yeast cells. However, between two polyPases the exopolyPase (PPX1) had the highest influence on this process in contrast to endopolyPases (PPN1). Taking into account, that these polyPases are located in different cellular compartments, the misbalance of the processes of synthesis and degradation of polyP chains in cytoplasm and mitochondria (the two cellular compartments in which the PPX1 activity was detected) may be a reason for marked changes. While PPN1 is localized in vacuoles, nuclei, and mitochondrial membrane and their role are assumed to be less substantial.

Palczynska-Gugula K., Tkachenko H., Kurhaluk N.

OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS

**IN THE MUSCLE TISSUE OF SEA TROUT (*SALMO TRUTTA* L.) SMOLTS
SAMPLED IN SLUPIA RIVER (NORTHERN POLAND) DURING 2009-2011**

Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk, Poland

Arciszewski Str. 22B, 76-200 Slupsk, Poland

e-mail: ka.palczynska@wp.pl; tkachenko@apsl.edu.pl

Pollution in freshwater ecosystem, particularly, heavy metal contamination may be one of the most important worldwide ecological problems in the future [Virha et al., 2011]. Water is an easy solvent, enabling most pollutants to dissolve in it easily and contaminate it [Al-Ghanim et al., 2016]. Organisms and vegetation that survive in water directly suffer the most basic effect of water pollution. Environmental pollutants such as metals change genetic, physiological, biochemical and behavioral parameters of fish and other aquatic organisms. In aquatic ecosystem fish can be successfully use as a bio-indicator for pollution [Al-Ghanim et al., 2016]. The main aim of our study was analysis of oxidative stress biomarkers (lipid peroxidation and oxidatively modification of proteins) and antioxidant defense (superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase, glutathione peroxidase, total antioxidant capacity) in the muscle tissue of a population of juvenile sea trout in Slupia river and its drainage basin areas (Głażna, Skotawa, Kamienna, Kwacza) during 2009-2011.

Our study has shown that eco-physiological reactions in the muscle tissue of juvenile sea trout living in the tributaries of Slupia river during 2009-2011 were as follows. The 2-thiobarbituric reactive substances as marker of lipid peroxidation during 2009-2011 was at a similar level. The highest levels of both aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins in muscle tissue of trout were obtained in 2009, while a downward trend in 2010 was noted, and in 2011 – re-growth again. The highest activity of superoxide dismutase was found in 2011, while the highest catalase activity was demonstrated in 2009. The positive correlations between the markers of oxidative stress and antioxidant defense were noted. Our results suggest that activation of antioxidant defense, i.e. glutathione peroxidase, catalase and glutathione reductase is a result of oxidative stress in the muscle tissue of the fish. High levels of lipid peroxidation as well as ketonic and aldehydic derivatives of oxidative modification of proteins in the muscle tissue of sea trout smolts may result from contamination environment in which these fish existed. Correlation differences obtained within three years indicate varying degrees of severity of oxidative stress in juveniles of sea trout from Slupia river and its drainage basin areas. Analysis of oxidative stress biomarkers (lipid peroxidation and oxidatively modification of proteins) and antioxidant defense (superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase, glutathione peroxidase, total antioxidant capacity) in the muscle tissue of the fish allowed the assessment of the pro- and antioxidant balance depending on their living environment and the occurrence of anthropogenic water pollution. Results of this study allow the assessment of the current situation of the physiological condition of the sea trout in the Slupia and its tributaries, as well as represent a substantive basis to take effective measures aimed at bringing to an increase in the size of their population in the Pomeranian rivers.

Pasichnyk A., Dmytryk V., Rayetska Ya.

**THE EFFECT OF AQUEOUS EXTRACT OF PHASEOLUS VULGARIS PODS
ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS IN THE CONDITIONS OF ESOPHAGUS
BURN OF SECOND DEGREE IN RATS**

Taras Shevchenko National University of Kyiv

Educational-scientific center «Institute of Biology and medicine»

prosp. akad. Glushkova, 2, Kyiv, 03022, Ukraine

e-mail: anastasiia555@mail.ua

Pasichnyk A., Dmytryk V., Rayetska Ya. Chemical burns are the most common pathology of the esophagus in children. In clinical practice, the important prognostic value has the de-

termination of the activity of aminotransferases in blood serum. These aminotransferases on the verge of the metabolism of proteins, fats, and carbohydrates and catalyze the transfer of amino groups to keto acids. Today, the topical question remains to search for new drugs to decrease the healing period of burn injuries and to normalize of the metabolic processes. The relevant is to use of natural non-toxic antioxidants as cytoprotectors. The protective effect of antioxidants is widely investigated in the conditions to influence of adverse factors on metabolic disorders.

Therefore the aim of this study was to investigate the activity of enzymes aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase (AST and ALT) in blood serum of rats at the conditions of alkaline second – degree esophagus burns with the administration of aqueous pods extract of *Phaseolus vulgaris*.

This work adhered to the general ethical principles of experiments on animals that are approved by the first National Congress on Bioethics Ukraine (September 2001), other international agreements and national legislation in this area. Experiments were conducted on white, nonlinear sexually mature rats (age 1 month) weighing 90 – 100 g. The chemically-induced esophageal burns were simulated by 20 % NaOH solution that corresponds of second – degree burns [Rayetska, 2014]. The investigated drug was administered starting from the 1st day in the dose of 200 mg/kg/day for 30 days. Serum samples were collected on 7, 15, 21 and 30 days for studies. The activity of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase were determined by using biochemical analyzer Humalyser 3000 by standard methods. Statistical analysis of the results was performed to use the methods of variation statistics by using the computer program Excel. To determine the significance of differences between the two samples, we used Student criteria (t). In this case, differences were considered significant at $P < 0.05$.

The study of the aminotransferases activity in the blood serum of rats under the alkaline burn of the esophagus was showed increased activity of AST and ALT on 7th, 15th, 21th, and 30th days of the experiment. The changes of the main transferases under the conditions of alkaline burn of the esophagus indicate on the significant dysfunction of various organs. In the groups of animals that introduced to the drug from *Phaseolus vulgaris* the activity of transaminases are decreased during the experiment and was the lowest on 15 days for AST and ALT.

Thus, in rats with the second – degree esophagus burns was observed disturbance of transaminases. In the groups of animals with the alkaline burn of the esophagus, that were injected with drug normalization of the indicators showing the obvious therapeutic effect of aqueous pods extracts of *Phaseolus vulgaris*.

Pazontka-Lipinski P., Witaszek M., Tkachenko H.

BENEFITS OF MODERATE TRAINING TO THE NON-SPECIFIC IMMUNE RESPONSE IN HORSES EXERCISED IN RECREATIONAL HORSEBACK RIDING

Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk, Poland

Arciszewski Str. 22B, 76-200 Slupsk, Poland

e-mail: pajo7@vp.pl; biology.apsl@gmail.com; tkachenko@apsl.edu.pl

Exercises remains a key aspect of improving of endurance and performance for horses involved to recreational riding [Hinchcliff and Geor, 2008]. The athletic capacity of horses is attributable to a number of physiologic adaptations. In some cases these adaptations are not affected by training – for example, lung size, whereas others change in response to training – for example, blood volume. The superior athletic ability of horses is attributable to their high maximal aerobic capacity, large intramuscular stores of energy substrates and in particular glycogen, high mitochondrial volume in muscle, the ability to increase oxygen-carrying capacity of blood at the onset of exercise through splenic contraction, efficiency of gait, and efficient thermoregulation [Hinchcliff and Geor, 2008]. However, strenuous physical exercise results in an enhanced

uptake of oxygen leading to increased metabolism, which may increase the production of blood cells and increase of the non-specific immune response [Deaton and Marlin, 2003]. Therefore, the aim of this study is to determine the exercise-induced variations of leukocytes' indices in horses involved in recreational horseback riding.

Thirteen healthy adult horses from Pomeranian region of Poland (aged 9.5 ± 2.4 years) were used. All horses have been participated in recreational horseback riding. Blood was drawn from jugular veins of the animals in the morning, 90 minutes after feeding, and immediately after exercise. Exercise started at 10:00 AM, lasted 1 hour and consisted from a ride of cross country by walking (5 min), trotting (15 min), walking (10 min), trotting (10 min), walking (5 min), galloping (5 min), and walking (10 min). The blood samples were assessed for white blood cells (WBC) and leucogram before and after exercise. In order to find significant differences (significance level, $p < 0.05$) between states at before and after exercise, Wilcoxon signed-rank test was applied to the data [Zar, 1999]. All statistical analyses were performed using STATISTICA 8.0 software (StatSoft, Poland).

In our study, horses had significantly higher values of WBC after training (by 26%, $p < 0.05$) compared to the resting period. There are two main WBC responses, physiological leukocytosis and stress leukocytosis. Physiological leukocytosis refers to changes in circulating WBC associated with the intervention of the sympathetic-adrenal axis resulting from splenic contraction in cases of fear, excitement, or high intensity exercise. Stress leukocytosis is associated with cortisol release under certain stressful situations [Satue et al., 2012]. Regular exercises is considered a physical stressor and as such has been shown to have profound effect on the immune response of many species [Woods et al., 2000, Folsom et al., 2004, Cappeli et al., 2007]. Different cell type in the immune system are provided to perform a particular function and work together to create the integrated immune response [Kadowaki et al., 2000]. Mechanism responsible on change leukocyte values and function following exercise are believed to be multifactorial and complex; although, alterations in neuroendocrine hormones, in particular, catecholamines and corticosteroids, in response to an exercise challenge have been associated with transient immunosuppression [Mackinnon, 2000, Pedersen and Hoffman-Goetz, 2000, Satue et al., 2012]. Furthermore, changes in levels β -endorphins, cytokines and sex steroids have been linked to altered of leukocyte values and function after acute exercise [Mackinnon, 2000, Pedersen and Hoffman-Goetz, 2000]. In general, moderate training is considered to have beneficial effects on host defense mechanism [Hines et al., 2008], whereas prolonged periods of high-intensity training may lead to slight impairment of several immune parameters [Mackinnon 2000, Satue et al., 2012].

Lymphocytes are the second largest population of circulating WBCs, after neutrophils and the main components of the immune system. It has been shown that in both humans and horses, acute exercises were mostly associated with a transient decrease in lymphocyte function as measured by lymphocyte proliferation [Neiman, 2000, Nesse et al., 2002]. Before exercise, horses had significantly lower values of lymphocytes and percentage of lymphocytes by 38% ($p < 0.05$) and 27% ($p < 0.05$), respectively compared to the period after exercise. Whereas, cross-sectional research reported about lower [Hoffman-Goetz et al., 1986, Papa et al., 1989] and higher [Neiman, 2000] lymphocyte proliferation in athletes; longitudinal research studies reported about increase [Verde et al., 1992], decrease [Hoffman-Goetz et al., 1986] or unchanged [Malinowski et al., 2004] lymphocyte proliferation through training program. Different results observed in values of leukocytes and lymphocytes in the present study might relate to different environmental conditions, training program, intensities or duration in horses. These finding indicate that training could improve immune function. A further study by Escribano and co-workers (2005) supported these research findings. In general, our results are in agreement with previous studies that have suggested that exercises improve immune response in horses.

Pryshchepa I.¹, Nedzvetsky V.^{1,2}**HYDRATED C₆₀ FULLERENE ATTENUATES ASTROGLIOSIS AND SWITCH CELL DEATH PATHWAYS IN RETINA OF DIABETIC RATS**¹ *Dnipropetrovsk National University, Dnipropetrovsk, Ukraine*² *Bingol University, Bingol, Turkey**E-mail: nedzvetskyvictor@gmail.com*

Oxidative stress plays an important role in the development of diabetic retinopathy. Retinal glial cells provide neurons with main metabolites and protect them from injuries. Hydrated C₆₀ fullerene (C₆₀HyFn) has been demonstrated to be a powerful antioxidant in CNS, however, its possible cytoprotection directed to retinal cells remains unknown. This study was organized to elucidate the potential of nanostructures of hydrated C₆₀ fullerene (C₆₀HyFn) to reduce oxidative stress and reactive gliosis induced by hyperglycemia in retinal tissues.

Diabetes was induced by single injection of streptozotocin (STZ) (50 mg/kg) to adult Wistar rats. STZ-injected rats were divided into four groups: control, C₆₀HyFn, diabetes, and diabetes+C₆₀HyFn. One part of diabetic and healthy control rats consumed 60 nM solution of C₆₀HyFn as drinking water for 90 days. TUNEL-assay was used to study apoptotic changes in retinal tissue, malone dialdehyde (MDA) content was measured as oxidative stress marker, hydroxynonenal, apoptotic marker caspase 3, vessel endothelial growth factor (VEGF) were measured by Western blot (WB) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) level was detected by WB and immunocytochemistry (IHC) as a marker of reactive astrocytosis.

Significant elevation of MDA concentration was observed in retinas of diabetic rats compared with control (P<0.01) at the 90 days of the experiment of stable hyperglycemia. Increased retinal GFAP levels (2.1 folds) was observed by WB in a diabetic group versus control (P<0.05). Reactive gliosis development was confirmed by IHC in the inner retinal layer. In the retinas of the diabetes+C₆₀HyFn group of animals was observed the decreasing TUNEL-assay stained apoptotic cells about 1.7 times compared with diabetes group. C₆₀HyFn supplementation significantly decreased MDA concentration and normalized both VEGF and GFAP levels compared to non-treated diabetic rats by 1.5 and 1.7 times accordingly.

Presented results show that C₆₀HyFn exerts protective effects against oxidative damages increased levels both VEGF and GFAP as a vascular and astroglial abnormality in diabetic retina. Thus, C₆₀HyFn supplementation may be one of an effective way for an inhibition of diabetic complications through inhibition of lipid peroxidation, microvessels growth and provides recovery of glial functions.

Sholokh A., Prysiashniuk A., Dovbynychuk T., Chervinska T.**EFFECT OF DOPAMINE D3-RECEPTOR AGONIST ON COLONIC MUCUS SECRETION DURING EXPERIMENTAL COLITIS IN RATS***Educational and Scientific Center 'Institute of Biology and Medicine'**Taras Shevchenko National University of Kyiv**2, Academician Glushkov avenue, Kyiv 03127, Ukraine**e-mail: anastasiasholokh21@gmail.com*

Mucus secretion provides maintenance of the mucosal barrier and acts as the first line of defense mechanism to various antigens [McGuckin et al. 2009]. The disruption of the mucosal layer could lead to the ulcerative colitis progression via the destruction of mucus glycoproteins and bacterial infiltration into the inner layer of the colon mucosal barrier. Our previous study showed that dopamine D3 receptor (D3R) agonist had a beneficial effect in experimental colitis treatment. We found the localization of D3R on the Goblet cells in colonic mucosa [Prysiashniuk et al., 2016]. That allows us to hypothesize the effect of these receptors on colonic mucus secretion. The aim of the present study was to investigate the effect of the D3R agonist on glycoprotein levels and their composition in rat colon with iodoacetamide (IA)-induced colitis.

The experiment was performed on male non-linear laboratory rats (170 – 200g, n=36). Experimental colitis was induced by intracolonic administration of 0,1 ml 6% IA. Control rats were given 0,1 ml 1% methylcellulose (i.c.). Rats were euthanized at 0,5, 2, 6 h and 3, 7 days after an enema. Selective D3R agonist 7-hydroxy-N,N-di-n-propyl-2-aminotetralin (7-OH-DPAT) (Sigma, USA) was injected at dose 0,02 mg/100 g, s.c. During the autopsy, 7 cm of colon from the anus has been removed. Surface mucus layer was separated from epithelial cells with an acidic solution of 0,9% NaCl or N-acetyl-L-cysteine. Determination of total levels of surface glycoprotein was done by periodic acid/Schiff (PAS) staining or by the reaction with Folin reagent after mucus glycoproteins isolation by sulphosalicylic acid and their precipitation by phosphotungstic acid. The contents of hexose, fucose, and hexosamine were determined by standard biochemical assays. Briefly here. The mucus was hydrolyzed with 4 n HCl (1:1) for 1 hour 100° C for determination of the hexose and fucose content. The hexose content was determined by the reaction with orcin reagent; the fucose - by the Dishe-Shettles method based on fucose reaction with hydrochloric cysteine. The content of hexosamines was determined by the reaction with acetylacetone in the base medium after previous mucus hydrolysis with 8 n HCl at 100° C for 5 h.

During the development of IA-induced colitis in rats, the total level of glycoproteins was significantly increased in 6 h (1,7-fold, $P<0.05$), on 3rd (2-fold, $P<0.05$) and 7th day (1,8-fold, $P<0.05$) after IA enema compared to control value. Also, we found that levels of hexose were significantly increased on 3rd (7,7-fold, $P<0.05$) and 7th day (5,5-fold, $P<0.05$) after IA enema comparing to control. The levels of hexosamine were increased in 0,5 (2,2-fold, $P<0.05$), 2 (2,4-fold, $P<0.05$), 6 h (2,9-fold, $P<0.05$), on 3rd (3,2-fold, $P<0.05$) and 7th day (3,9-fold, $P<0.05$) after IA enema comparing to control. Levels of fucose were significantly decreased in 6 h (3,3-fold, $P<0.05$), on 3rd (4-fold, $P<0.05$) and 7th day (7,5-fold, $p<P.05$) after enema compared to control value.

Pre-treatment with 7-OH-DPAT did not affect the levels of glycoprotein in normal mucosa. While during IA-induced UC in rats, 7-OH-DPAT significantly increased total levels of glycoprotein (1,6-fold, $P<0.05$) and hexose (1,1-fold, $P<0.05$) in colonic mucus.

Levels of total glycoproteins in colonic mucus and composition of carbohydrate part of glycoproteins were changed under experimental IA-induced colitis in rats. Pre-treatment with D3R-agonist increased level of mucus secretion during experimental colitis, which could indicate the protective role of D3R.

Soltys I.¹, Horyn O.², Falfushynska H.^{1,2}

DISTINCT ENDOCRINE RESPONSES AND COMMON VULNERABILITY OF ZINC HOMEOSTASIS IN MARCH FROG *PELOPHYLAX RIDIBUNDUS* EXPOSURES TO TYPICAL WASTEWATER EFFLUENTS

¹Research Laboratory of Comparative Biochemistry and Molecular Biology

Ternopil National Pedagogical University

2, M. Kryvonosa Str., Ternopil, 46027, Ukraine

²I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University

1, Maidan Voli Ternopil, 46001, Ukraine

e-mail: halinka.f@gmail.com; www.biochemlab.tnpu.edu.ua

Pharmaceutical and personal care products (PPCPs) are the environmental pollutants of growing concern due to their suspecting disruptive effects on the endocrine system. Amphibians belong to the most targeted wild animals in the contemporary world. The aim of this study was to indicate the endocrine responses in march frog *Pelophylax ridibundus* to the effect of PPCPs commonly found in the wastewater. We treated male frogs with low concentrations of ibuprofen (IBU, 250 ng L⁻¹), triclosan (TCS, 500 ng L⁻¹) or estrone (E1, 100 ng L⁻¹) for 14 days. Untreated frogs were control (C). To evaluate the endocrine activity, the thyroid axis (using concentration of thyrotropin (TSH) and hepatic deiodinase), the stress axis (the cortisol concentration) and reproductive axis (assessed by the level of vitellogenin (Vtg) and Vtg-like proteins (Vtg-LP) in males

as a biomarker for xenoestrogen exposure) were characterized. The hepatic cytochrome P450 (CYP450) and glutathione *S*-transferase (GST) activities involved in the hepatic transformation were evaluated. The characteristics of zinc (Zn^{2+}) and copper (Cu^{2+}) homeostasis in the liver and oxidative stress indices were included in the set of parameters taking into consideration the particular susceptibility of metal-buffering and stress-related proteins metallothioneins of marsh frog *Pelophylax ridibundus* to the environmental pollution and experimental contaminants [Falfushynska et al., 2008, 2015]. We utilized two or three alternative assays for the detection of the levels of metallothionein, vitellogenin and CYP450-related activities to strengthen the validity of expertise. Geno-, cyto- and neuro- toxicity markers and the activities of the apoptotic proteases caspase-3 and cathepsin D were detected to evaluate the severity of lesions.

All exposures caused a set of similar responses: depletion of cholinesterase in the brain, a decrease (up to four fold) of cytochrome P450 (CYP450)-related transformation, detected from EROD and immune active CYP450 activities (with one exception), up-regulation of glutathione-*S*-transferase, lysosomal protease cathepsin D activities and DNA fragmentation in the liver and decreased (by two fold) cortisol concentration in the blood plasma. The vulnerability of metal homeostasis was shown from reduced zinc/copper concentration ratio and metallothionein level in the liver accompanied by increased level of nonmetalated metallothionein. The endocrine and oxidative stress responses were distinct in each exposure. Exposure to IBU led to up-regulation of oxyradicals and glutathione (GSH and GSSG) levels and targeted the lysosomal membrane stability. TCS provoked the prominent increase of GSSG (by 7.3 times) and lactate levels. E1 caused a particular increase in vitellogenin and thyrotropin levels in the blood plasma, down-regulation of deiodinase and superoxide dismutase and increasing the levels of oxyradical, GSSG and pyruvate (by 3.2 times) in the liver. These prominent changes were accompanied by up-regulation of caspase-3 and efflux of cathepsin D from lysosomes in the liver. CYP450 activity was the main distinguishing marker for all groups determined by CART analysis. High common vulnerability and particular endocrine imbalance caused by typical effluent E1 could be of concern for the health status of frogs in their habitats.

This work has been granted by the Ministry of Education and Science of Ukraine (Project # 125B).

Taburets O., Grebinyk D., Dranitsina A., Dvorshenko K., Vereschaka V., Beregova T.

**NEW PHARMACOLOGICAL COMPOSITION WHICH CONTAINED MELANIN
STIMULATES WOUND HEALING WITHOUT SCARRING**

Educational and Scientific Center “Institute of Biology and medicine”

Taras Shevchenko National University of Kyiv

2, Academica Hlushkova ave., Kyiv, 03022, Ukraine

E-mail: olesya8@ukr.net

Despite advances in traumatic wound care and management, infections remain a leading cause of mortality, morbidity and economic disruption in millions of wound patients around the world. We used a new pharmacological composition which contained melanin to test the rate of wound healing.

The prooxidant-antioxidant balance in blood serum in dynamics on 3rd, 5th, 7th, 9th, and 14th days of full epithelization was estimated using spectrophotometric and fluorometric biochemical methods. *Tgfb1* and *Ptgs2* expression were determinate by Quantitative RT-PCR. Type of data distribution in groups was checked with Shapiro-Wilk test.

The current study demonstrates an increase in the expression of *Tgfb1* and *Ptgs2* during healing of full-thickness skin wound. In the skin of untreated animals, the content of collagen type II was higher that led to scarring. The level of superoxide anion and the content of lipid peroxidation products – conjugated diens, TBA – active products and Schiff bases increased after injury. The superoxide dismutase activity was reduced. Catalase activity in blood serum was significantly increased. All investigated parameters normalized in dynamics after treatment with melanin.

The results of our trial show positive effects of melanin on wound healing. The application of our pharmacological composition stimulated epithelization without scarring. Treatment with melanin reestablished the prooxidant-antioxidant balance. Reduction of expression of *Tgfb1* and *Ptgs2* genes on the background of the absence of scarring was observed upon administration of melanin. Obtained results may indicate the advisability of applying melanin for the treatment of inflammatory processes.

Tikhova Y., Korotkyi O., Kovelska Y., Dvorshchenko K.

POSITIVE EFFECT OF CHONDROITIN SULFATE ON PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN RAT CARTILAGE TISSUE IN THE TREATMENT OF OSTEOARTHRITIS

*Institute of Biology and Medicine, Taras Shevchenko National University of Kyiv
2, Academician Glushkov avenue, Kyiv, 03127, Ukraine
e-mail: chernishevskaja.alisa@yandex.ru*

Osteoarthritis is a chronic degenerative disease that tends to strike at the age between 20 and 40 leading to stiffness, pain and disability [Sharif B. et al., 2016]. Chondroprotectors containing proteoglycans can become a basis for chronic treatment due to their high safety profile, with no side effects and no interactions with other drugs [Vasiliadis H.S., 2017]. We aimed to estimate the effect of chondroitin sulfate on the prooxidant-antioxidant balance of rat cartilage tissue.

The model of monoiodoacetate (MIA)-induced joint inflammation in male white rats was used to perform the study. Rats weighing 150 – 200 g were divided into 4 groups. The first group was the control one. The second group was treated with MIA: the right knee joint was injected through the infrapatellar ligament with 3.0 mg MIA, dissolved in 50 µl of the sterile physiologic saline solution. The third group served as positive control and received only the treatment with chondroitin sulfate for 25 days. The fourth group at first had been injected with MIA as described and from the next day was treated with chondroitin sulfate for 25 days. The prooxidant-antioxidant balance in cartilage tissue was estimated using spectrophotometric biochemical methods. ANOVA was used for statistics analyses.

The level of reactive oxygen species (ROS) - superoxide anion radical and hydrogen peroxide in rat cartilage after MIA injection was up to 3 times higher than in control tissues. The content of lipid peroxidation products – conjugated dienes, TBA-reactive products and Schiff bases were 2 times higher than in control. Measurement of catalase and superoxide dismutase activity showed their 5-fold increase. After the treatment with chondroitin sulfate, the levels of investigated parameters were normalized. Positive control showed no changes in the prooxidant-antioxidant balance of cartilage tissues compared to the first control group samples.

Elevated levels of ROS and lipid peroxidation products and increased activities of catalase and superoxide dismutase in rat cartilage with osteoarthritis indicate a pro-inflammatory state, which may evolve in joint inflammation. Administering of chondroitin sulfate reestablished the prooxidant-antioxidant balance. Our data suggest that treatment with chondroitin sulfate may improve tissue prooxidant-antioxidant balance condition and inhibit the development of inflammation.

Tkachenko H., Gralak P.

RESPONDENTS' OPINIONS

ABOUT THE LEGAL AND ETHICAL ISSUES OF EUTHANASIA

*Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk, Poland
Arciszewski Str. 22B, 76-200 Slupsk, Poland
e-mail: biology.apsl@gmail.com; tkachenko@apsl.edu.pl*

Euthanasia is the termination of a very sick person's life in order to relieve them of their suffering. A person who undergoes euthanasia usually has an incurable condition. But there are other instances where some people want their life to be ended. In many cases, it is carried out at the person's request but there are times when they may be too ill and the decision is made by

relatives, medics or, in some instances, the courts. The issue has been at the centre of very heated debates for many years and is surrounded by religious, ethical and practical considerations. At the heart of these arguments are the different ideas that people have about the meaning and value of human existence. There are also a number of arguments based on practical issues. Therefore, the aim of our study was to analyze the opinions of people of different ages, different genders, with varying degrees of education and from different places of residence, concerning the ethical and legal issues of euthanasia [Van der Maas, 1996, Materstveld et al., 2003].

The study was conducted in 2011-2013 among the residents of Slupsk, Bytow, Potegowo and Czarna Dabrowka (Pomeranian voivodeship) in the following age groups: 18-24 years old (160 respondents), 25-34 years (81 respondents), 35-44 years (80 respondents), more than 45 years (104 respondents). The data obtained were compared with the results of the reports Public Opinion Research Center (PORC 2005, 2009, 2013). In the poll, respondents were asked to express their opinion concerning to euthanasia. In our survey, respondents were asked to response the following questions: 1. Do doctors should follow the will of suffering, terminally ill, who insist on giving them the means of causing death? 2. Is it possible at the request of the family to disconnect the specialized equipment for life support of patient who is unconscious for a long time, with brain damage and never be able to live a normal life? 3. In the case of the terminally ill, whose suffering cannot alleviate, does the law should allow, at the request of the family, that his doctor could shorten the life of the patient by means of painless agents? 4. Is the euthanasia, i.e. the killing of a person terminally ill, at his request, can be justified in some circumstances?

Our respondents believed that the will of terminally ill patients and sufferers who want to give them the means leading to death should be met by doctors. Besides, they think that it is acceptable to disconnect the equipment from the patient with diagnosed brain damage at the request of the family. The opinion of people concerning the ethical and legal issues of euthanasia in a low or an average degree depends on age, education and place of residence of the respondents. Despite the controversy prevailing against euthanasia, approximately half of our respondents mentioned that if a sick patient is very hard to suffer and it no opportunity longer to support or relieve the suffering, and he would like to use drugs causing death with agreement of his family, doctors should listen to him and to do it. Respondents stated that the doctors with the consent of the family should be to disconnect from the equipment people who have faulty brain and cannot help them. Along with the age of respondents, the acceptance of the performance of any of the above activities is reduced.

Tkachenko H.¹, Grudniewska J.²

**BIOCHEMICAL CHANGES IN THE BRAIN TISSUE INDUCED
BY BATH VACCINATION AGAINST *AEROMONAS* SPP. IN RAINBOW TROUT
(*ONCORHYNCHUS MYKISS* WALBAUM)**

¹*Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk
Poland; Arciszewski Str. 22B, 76-200 Slupsk, Poland
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl, biology.apsl@gmail.com*

²*Department of Salmonid Research, Stanislaw Sakowicz Inland Fisheries Institute
83-330 Zukowo, Poland; e-mail: jgrudniewska@infish.com.pl*

Furunculosis caused by infection with the bacterial pathogen *Aeromonas salmonicida* and *Aeromonas hydrophila*, has posed a major threat to the production of salmonid fish [Swain et al., 2010, Villumsen and Raida 2013]. Different kinds of vaccines have been investigated against *A. hydrophila* including whole cell, outer membrane proteins, extra-cellular proteins, lipopolysaccharides (LPS), biofilms and live *aeroA* mutant attenuated vaccines [Swain et al., 2010]. While each medicine probably are effective in the treatment of a particular disease, problems arise with the development of possible pathological side effects of immunization in fishes, as well as the emergence of antibiotic resistant pathogenic strains. Immunization with vaccines may lead in a strong local reaction and side effects, such as granuloma formations and pigmentation, sometimes leading to reduced growth of vaccinated fish and may also be regarded as an animal welfare problem [Gudmundsdottir and Bjornsdottir, 2007]. Despite the importance and success of vaccination, little is known about the mechanisms of oxidative stress and biochemical alterations in fish during

vaccination against furunculosis. In the present study, we have determined the oxidative stress biomarkers [levels of 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and oxidative modified protein (OMP) derivatives] and biochemical alterations [alanine (ALT) and aspartate aminotransferases (AST), lactate dehydrogenase (LDH) activity, lactate and pyruvate levels] in the brain tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) vaccinated against furunculosis.

Clinically healthy rainbow trout with a mean body mass of (135.5 ± 1.5) g were used in the experiments. The fish were divided into two groups and held in 250-l square tanks (70 fish per tank) supplied with the same water as during the acclimation period (2 days). Fish were vaccinated and grouped as follows: I) unhandled controls, II) vaccinated by vaccine against furunculosis. The vaccine against furunculosis is a vaccine containing an inactivated strain of *A. salmonicida* and *A. hydrophila* in concentration 1×10^{10} colony forming units (CFU). Immersion lasted from 60 to 120 seconds. Significance of differences between the oxidative stress biomarkers level (significance level, $p < 0.05$) was examined using Mann-Whitney *U* test. Correlations between parameters at the set significance level were evaluated using Spearman's correlation analysis [Zar, 1999]. All statistical calculation was performed on separate data from each individual with STATISTICA 10.0.

The study shows post-treatment alterations in oxidative stress profile in the brain tissue of rainbow trout treated by vaccine against furunculosis. The decrease of lipid peroxidation (TBARS level), as well as aldehydic and ketonic derivatives of protein damage were observed. However, the post-treatment TAC level showed decrease after vaccination. In our study, lower level of TBARS and protein oxidations in the brain tissue of vaccinated fish apparently is caused by adaptation of brain metabolism to the vaccine against furunculosis during immunization. Vaccination caused a significant decrease of the TBARS level in the brain tissue by 24.1% ($p = 0.017$). Aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins in the trout vaccinated against *Aeromonas* spp. were significantly reduced (by 27%, $p = 0.008$ and by 24%, $p = 0.008$, respectively) compared to the level in the controls. ALT and AST activities were significantly altered in the brain tissue of the vaccinated trout (ALT was decreased by 27%, $p = 0.002$ while AST was increased by 59%, $p = 0.000$) as compared with control group. LDH activity in vaccinated trout was non-significantly altered. Regarding the pyruvate, its level was decreased by 35% ($p = 0.006$) in vaccinated trout compared to values of untreated fish. Lactate level was non-significantly altered in vaccinated trout. In vaccinated group, TBARS level correlated positively with aldehydic ($r = 0.899$, $p = 0.000$) and ketonic derivatives of OMP ($r = 0.905$, $p = 0.000$), both with ALT ($r = 0.844$, $p = 0.000$) and AST activity ($r = 0.923$, $p = 0.000$), as well as LDH activity ($r = 0.899$, $p = 0.000$) and lactate level ($r = 0.681$, $p = 0.005$). The aldehydic derivatives of OMP correlated positively with ALT ($r = 0.924$, $p = 0.000$) and AST activity ($r = 0.978$, $p = 0.000$), as well as lactate ($r = 0.781$, $p = 0.001$) and pyruvate level ($r = 0.763$, $p = 0.001$). The ketonic derivatives of OMP correlated positively with ALT ($r = 0.932$, $p = 0.000$) and AST activity ($r = 0.986$, $p = 0.000$), as well as lactate ($r = 0.781$, $p = 0.001$) and pyruvate level ($r = 0.760$, $p = 0.001$). Correlations between lipid peroxidation biomarker, carbonyl derivatives of protein damage, aminotransferases and lactate dehydrogenase activity as well as lactate and pyruvate levels confirmed the assumption that oxidative stress could alter the protein metabolism for improve adaptive mechanisms during immunization.

Tkachenko H.¹, Grudniewska J.², Bogacz R.¹, Szmyjda S.¹

OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN THE HEART AND LIVER OF RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) UPON DISINFECTION BY FORMALIN

¹*Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk
Poland; Arciszewski Str. 22B, 76-200 Slupsk, Poland
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl, biology.apsl@gmail.com*

²*Department of Salmonid Research, Stanislaw Sakowicz Inland Fisheries Institute
83-330 Zukowo, Poland; e-mail: jgrudniewska@infish.com.pl*

Toxicity of formaldehyde has been attributed to its ability to form adducts with DNA and proteins [Teng et al. 2001]. Formaldehyde enters the single-carbon cycle and is incorporated as a methyl group into nucleic acids and proteins. formaldehyde reacts chemically with organic com-

pounds (e.g., deoxyribonucleic acid, nucleosides, nucleotides, proteins, amino acids) by addition and condensation reactions, thus forming adducts and deoxyribonucleic acid-protein crosslinks [Thrasher and Kilburn, 2001]. It causes oxidative DNA damage in cells by increasing the production of reactive oxygen species (ROS) [Ciftci et al., 2015]. On the other hand, formaldehyde covalently binds with proteins to form formaldehyde-protein conjugates, which may lead to the formation of formaldehyde-specific antibodies [Li et al., 2007]. ROS, chemically reactive molecules containing oxygen, including hydroxyl radicals, superoxides, peroxynitrites and lipid peroxyl radicals, can form as a natural byproduct of the normal metabolism of oxygen and also have their crucial roles in cell homeostasis [Lu et al., 2012]. The balance between ROS production and their removal by antioxidant systems is the "redox state". Oxidative stress is defined as an excess production of ROS relative to the levels of antioxidants. When the production of ROS exceeds the capacity of antioxidant defense, oxidative stress has a harmful effect on the functional and structural integrity of biological tissue [Tsutsui et al., 2011]. The present study aims to explore potential contributions of disinfection by formalin to the development of oxidative stress and antioxidant defenses in the cardiac and hepatic tissue of rainbow trout. In this study, we sought to determine whether the profile of 2-thiobarbituric-acid-reacting substances (TBARS), aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins, as well as activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPx), and total antioxidant capacity (TAC) in cardiac and hepatic tissues of juvenile rainbow trout changed following exposure to formalin. Assays for oxidative stress and antioxidant defenses were used to identify potential biomarkers in assessment of formalin disinfection of rainbow trout.

The fish were divided into two groups and held in 250-L square tanks (70 fish per tank) supplied with the same water as during the acclimation period (2 days). Water supply to each tank was stopped on alternative days. Fish were disinfected using formalin in final concentration of 200 mL per m³ (Group II, n=10). Control group (Group I, n=11) was handled in the same way as formalin-exposed group with the same water. Fish were bathed for 20 min and procedure repeated three times every 3 days. Two days after the last bathing fish were killed and decapitated. No anesthetic agent was used before killing, decapitation and tissue sampling of specimens.

Our results for cardiac antioxidant defense showed a significant reduction of SOD activity in the formalin-exposed trout. High level of oxidative stress biomarkers (TBARS and oxidatively modified proteins) were observed in the cardiac tissue, therefore SOD is highly vulnerable to inhibition by free radicals. CAT activity was increased in the formalin-disinfected group, which might be related to the free radical-induced lipid peroxidation and consequently might reduce the SOD activity. SOD controls the level of superoxide in the extracellular space by catalyzing the dismutation of superoxide into hydrogen peroxide and molecular oxygen. In addition, the enzyme reacts with hydrogen peroxide in a peroxidase reaction, which is known to disrupt enzymatic activity [Gottfredsen et al., 2013]. The inactivation of SOD by peroxidase activity plays a role in regulating SOD activity *in vivo*, as even low levels of superoxide allow for the peroxidase reaction to occur [Gottfredsen et al., 2013]. In our study, we speculate that increased CAT activity and high level of hydrogen peroxide can inhibit SOD activity in cardiac tissue of formalin-exposed trout.

Inverse alterations in the hepatic tissue of formalin-disinfected trout were observed. Our analyses for oxidative stress biomarkers in the liver of rainbow trout showed that exposure to formalin caused the decrease of aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins and increase of SOD activity. These findings suggest that formalin disinfection of trout has a revers effect on the cardiac and hepatic tissue, causing oxidative stress in the cardiac tissue and decrease of protein damage in the hepatic tissue. There are an inverse correlations between SOD activity and derivatives of oxidatively modified proteins. Our biochemical observations supported these correlations as the formalin-exposed trout with increased SOD activity resulted in the decreased level of protein damage in the hepatic tissue.

In the present study, we demonstrated that the oxidative stress biomarkers were significantly increased only in the cardiac tissue of formalin-disinfected group. Thus, it might be concluded that the formalin disinfection can increase oxidative stress in the heart of rainbow trout which in turn will lead to cardiac problems. Contrary, decrease of oxidatively modified proteins in the he-

patic tissue after formalin disinfection has occurred. Recognizing the role of biochemical changes in the tissues of formalin-exposed trout has important implications for understanding complexity of the physiological changes that occur during disinfection but also for improving aquaculture practices to maximize tissues growth and health of treated trout.

Tkachenko H.¹, Grudniewska J.², Pekala A.

OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN THE LIVER OF RAINBOW TROUT *ON-CORHYNCHUS MYKISS* AFTER TWO MONTHS OF IMMUNIZATION AGAINST *YERSINIA RUCKERI*

¹*Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk
Poland; Arciszewski Str. 22B, 76-200 Slupsk, Poland
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl, biology.apsl@gmail.com*

²*Department of Salmonid Research, Stanislaw Sakowicz Inland Fisheries Institute
83-330 Zukowo, Poland; e-mail: jgrudniewska@infish.com.pl*

³*Department of Fish Diseases, National Veterinary Research Institute, Pulawy, Poland*

The enteric redmouth (ERM) disease is traditionally associated with rainbow trout [Ormsby et al., 2016]. Vaccination of rainbow trout against ERM by immersion in *Y. ruckeri* bacterin confers a high degree of protection to the fish [Raida et al., 2011]. Exploring the effects of vaccination against *Y. ruckeri* on health condition of trout in general, and oxidative stress biomarkers in different tissues specifically, would be valuable. The present study aims to clarify the effects of vaccination against *Y. ruckeri* on liver function, and the oxidative mechanism underlying those effects, by detecting relevant lipid peroxidation and protein oxidation biomarkers as well as antioxidant defenses in trout immunized against *Y. ruckeri*.

Clinically healthy rainbow trout with a mean body mass of 107.9 ± 3.1 g were used in the experiments. The experiments were performed in water at $14.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ and pH 7.2-7.4. The fish were divided into two groups: untreated control and immunized against ERM. The vaccine against ERM (Department of Fish Diseases, National Veterinary Research Institute, Pulawy, Poland) contained three inactivated *Y. ruckeri* strains originating from rainbow trout cultured at different farms, in which fish were exhibiting clinical signs of ERM. The bacteria isolates belonged to O1 serotype and showed some differences in their biochemical properties. Concentrated vaccine was enclosed by fish feed, and was administered three times every other day. Fifteen rainbow trout from each group were euthanized 60 days after the immunization, and then hepatic tissue samples were collected. Significance of differences between the oxidative stress biomarkers level (significance level, $p < 0.05$) was examined using Mann-Whitney *U* test. Correlations between parameters at the set significance level were evaluated using Spearman's correlation analysis [Zar, 1999]. All statistical calculation was performed on separate data from each individual with STATISTICA 10.0.

TBARS level in the liver at second month was non-significantly reduced (by 67.3%, $p > 0.05$), compared to unhandled groups. The content of aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins (OMP) in the liver was non-significantly decreased in the group vaccinated against *Y. ruckeri* at second month compared to unhandled group. The aldehydic and ketonic derivatives of OMB in hepatic tissue of fish treated by vaccine against *Y. ruckeri* at 61 days after immunization was non-significant lower (by 11% and 6.4%, $p > 0.05$, respectively) compared to unhandled control. There were no statistically significant alterations in the activities of antioxidant defenses instead CAT and GPx activity in the hepatic tissue of the trout treated by vaccine against *Y. ruckeri* at second months after immunization. The CAT activity was decreased by 25% ($p = 0.014$) after immunization. The GPx activity in the liver of the trout treated by vaccine against *Y. ruckeri* at second months after immunization was increased by 96% ($p = 0.017$) compared to the controls. The alterations in markers of oxidative stress and antioxidant defenses suggest that glutathione-dependent enzymes may contribute to balance of oxidative stress in the liver of trout vaccinated against *Y. ruckeri*. The findings described in the present study allow the conclusion that immunization by anti-*Yersinia* vaccine not alter oxidative stress markers compared to a unhandled controls at second months after immunization. We also have shown that

antioxidant defense makes it possible to avoid the cellular lesions that cause anti-*Yersinia* vaccine. Correlative analysis between oxidative stress biomarkers confirm our conclusions. In vaccinated group, aldehydic derivatives of OMP correlated positively with TBARS level ($r=0.701$, $p=0.024$) and GR activity ($r=0.677$, $p=0.032$). The GR activity correlated inversely SOD activity ($r=-0.638$, $p=0.047$) and positively with GPx activity ($r=0.775$, $p=0.009$). Understanding the role of oxidative stress in the tissues of vaccinated trout has important implications for understanding of the complex physiological changes that occur in immunization but also for improving aquaculture practices to maximize tissues growth and health of vaccinated trout. The oxidative stress biomarkers, i.e. content of oxidative protein damage, as well as antioxidant defenses in the liver were sensitive to vaccination of trout against *Y. ruckeri* and may potentially be used as biomarkers in evaluating vaccine toxicity in rainbow trout. From a practical point of view, the results may be useful in relation to studies of infections and the development, administration and uptake of new vaccines applicable for large amounts of fish.

Tkachenko H., Hetmanski T., Kurhaluk N.

OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN THE MUSCLE TISSUE
OF GREEN FROGS (*RANA ESCULENTA* COMPLEX) FROM DIFFERENT
AREAS OF POMERANIAN REGION

*Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk, Poland
Arciszewski Str. 22B, 76-200 Slupsk, Poland
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl*

Amphibians are very sensitive to environmental pollution because they have both aquatic and terrestrial life cycle stages and high skin permeability [Gripp et al., 2017]. Particularly during the larval stages, when these animals are restricted to small, transient ponds, exposure to high concentrations of xenobiotics, transition metals especially, is inevitable in polluted areas. Given that the increase of xenobiotics level is observed during the summer, which coincides with the reproductive season and the occurrence of most tadpoles in their natural environment, strong indications exist that tadpoles are developing in contaminated ponds [Gripp et al., 2017]. On the other hand, it is suggested that metal-induced oxidative stress in cells can be partially responsible for the toxic effects of heavy metals [Ercal et al., 2001]. Transition metals act as catalysts in the oxidative reactions of biological macromolecules therefore the toxicities associated with these metals might be due to oxidative tissue damage [Ercal et al., 2001]. Metals, including iron, copper, chromium, and vanadium undergo redox cycling, while cadmium, mercury, and nickel, as well as lead, deplete glutathione and protein-bound sulfhydryl groups, resulting in the production of reactive oxygen species as superoxide ion, hydrogen peroxide, and hydroxyl radical [Stohs and Bagchi, 1995]. Either redox-active or redox-inactive metals may cause an increase in production of reactive oxygen species (ROS) such as hydroxyl radical ($\text{HO}\cdot$), superoxide radical ($\text{O}_2^{\cdot-}$) or hydrogen peroxide (H_2O_2) [Ercal et al., 2001]. Therefore, the purpose of this study was to evaluate the possible environment-induced changes of oxidative stress biomarkers (2-thiobarbituric acid as lipid peroxidation marker, aldehydic and ketonic derivatives as biomarkers of oxidatively modified proteins) and total antioxidant capacity in the muscle tissue of green frogs (*Rana esculenta* complex) from different areas of Pomeranian region during 2010-2013 [Slupsk, Slupsk suburban area (Landscape Park "Dolina Siupii"), Goszczino, Gdynia] which are characterized by different levels of pollution.

Interestingly, the highest values of oxidative stress biomarkers (TBARS, aldehydic derivatives of oxidatively modified proteins) in the muscle tissue of green frogs were obtained in males from Slupsk suburban areas in 2013. Lowest values of oxidative stress biomarkers were found in male and female of green frogs in 2010. Moreover, the highest values of oxidative stress biomarkers and decreased of total antioxidant capacity in the muscle tissue of green frogs were demonstrated in the group of males compared to females.

The use of antioxidant biomarkers to determine the oxidative damage produced by heavy metals in various organisms is a useful and frequently used tool in biomonitoring studies [Radwan et al., 2010, Tkachenko and Kurhaluk, 2012, 2013, Messina et al., 2014]. The majority of

studies assessing the relationship between metal concentrations and the biomarkers of oxidative stress have examined fish and birds [Ercal et al., 2001, Koivula and Eeva, 2010]. Only a few studies were conducted on amphibians under natural conditions [Prokic et al., 2016, 2017, Borkovic-Mitic et al., 2016]. Our data showed that areas with different levels of pollution correlated with oxidative stress in the muscle tissue of green frogs (*Rana esculenta* complex) exposed to environmentally relevant concentrations and could lead to a decrease in the long-term physiological performance of these animals, leading to detrimental effects at the population level. It is necessary to continue monitoring *Rana esculenta* complex in order to acquire a better understanding of the effects of xenobiotics on the biomarkers of oxidative stress in free-living frog populations.

Tkachenko H.¹, Grudniewska J.², Wydryszek U.¹, Bogacz R.¹

**OXIDATIVE STRESS CHANGES IN GRAYLING (*THYMALLUS THYMALLUS* LINCK)
MUSCLE TISSUE FOLLOWING EXPOSURE TO CHLORAMINE-T**

¹*Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk
Poland; Arciszewski Str. 22B, 76-200 Slupsk, Poland
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl, biology.apsl@gmail.com*

²*Department of Salmonid Research, Stanislaw Sakowicz Inland Fisheries Institute
83-330 Zukowo, Poland; e-mail: jgrudniewska@infish.com.pl*

The infectious diseases in aquaculture are of major concern to the industry and are typically controlled by eradication of the pathogen, treatment with antibiotic or chemotherapeutics, and/or by preventative measures such as the use of probiotics or vaccines. To limit the use of chemicals and antibiotics, good farm management is highly recommended. In terms of treatment, chemicals and antibiotics should be evaluated to establish recommended doses and withdrawal periods, otherwise alternative treatments should be developed [Chinabut and Puttinaowarat, 2005]. Chloramine-T, as an anti-microbial agent, has had widespread use in a broad range of practices. In aquaculture, as a therapeutic agent, it is used as an effective treatment of bacterial gill disease in freshwater or marine aquaria, garden ponds, or other aquatic systems at concentrations ranging from 6.5 to 10.0 mg/L [23.1 to 35.5 μ M] and as a preventative, prophylactic, and disinfectant treatment in many fresh water hatcheries. It is effective for the control of proliferative and bacterial gill disease as well as flexibacteriosis in freshwater, and more recently attention has turned to its use in seawater. However, despite the wide use of chloramine-T, only few studies have examined its toxicity to fish [Powell and Harris, 2004]. Therefore, the aim of the current study was to examine the effects of disinfection by Chloramine-T on the muscle tissue of grayling (*Thymallus thymallus* Linck) using oxidative stress biomarkers [levels of 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and oxidative modified protein (OMP) derivatives] and antioxidant defense [superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPx), total antioxidant capacity (TAC)] to observe the its toxic effects. The endpoints obtained from this study will be useful to monitor the effects of disinfectant bathing with Chloramine-T for this species of fish.

Twenty clinically healthy grayling were used in the experiments. In the disinfectant exposure, grayling (n=10) were exposed to Chloramine-T in final concentration 9 mg per L. Control group of grayling (n=10) were handled in the same way as Chloramine-T exposed groups. Fish were bathed for 20 min and repeated three times every 3 days. Two days after the last bathing fish were sampled.

The present study has revealed that fish developed tissue-specific enzyme responses, such as decrease in superoxide dismutase and catalase activity as well as total antioxidant capacity in muscle tissue with decrease of lipid peroxidation as response to the Chloramine-T disinfection. This data are compatible with lower antioxidant defense. Correlative analysis has revealed positive correlations between oxidative stress biomarkers (aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins, TBARS as marker of lipid peroxidation) and antioxidant defenses. Significantly lower TBARS level (by 39%, $p=0.004$) in grayling disinfected by chloramine-T compared to control group was observed. Aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins in the muscle tissue of grayling disinfected by chloramine-T were non-significantly lower compared to controls. The CAT activity was lower by 72% ($p=0.001$) after Chloramine-T

influence. The SOD activity in the muscle tissue of grayling disinfected by Chloramine-T was also decreased by 15% ($p=0.001$) compared to the controls. Significant decrease of TAC level (by 13%, $p=0.026$) in the muscle tissue of grayling as a consequence of bathing with chloramine-T was found. Correlative analysis has revealed positive correlations between oxidative stress biomarkers (aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins, TBARS as marker of lipid peroxidation) and antioxidant defenses. Muscle aldehydic derivatives of OMP correlated positively with TBARS ($r=0.854$, $p=0.002$) and catalase activity ($r=0.734$, $p=0.016$), ketonic derivatives of OMP correlated positively with TBARS ($r=0.852$, $p=0.002$) and aldehydic derivatives of OMP ($r=0.965$, $p=0.000$), catalase activity correlated positively with TBARS ($r=0.735$, $p=0.015$) and GR activity ($r=0.714$, $p=0.020$), as well as GR activity correlated positively with TBARS ($r=0.827$, $p=0.003$) and GPx activity ($r=0.725$, $p=0.018$). Our studies indicated that Chloramine-T in dose 9 mg per L could at least partly attenuate oxidative stress and can be used for prophylactic treatment of grayling. However, more detailed studies on using of these specific biomarkers to monitor the disinfectant treatment in aquaculture are needed.

**Vovk A., Korotkyi O., Protchenko Yu., Sidorchuk N., Pozniak D.,
Blokina O., Dvorshchenko K.**

**MARKERS OF OXIDATIVE/ANTIOXIDATIVE BALANCE OF RATS
SERUM WITH TYPE II COLLAGEN-INDUCED ARTHRITIS**

*Institute of Biology and Medicine
Taras Shevchenko National University of Kyiv
2, Academician Glushkov ave., Kyiv, 03127, Ukraine
e-mail: andriiovovk@ukr.net*

Osteoarthritis is a widespread pathology of the musculoskeletal system. Metabolism violation of cartilage in limbs leads to limitations in mobility and pain. Modern treatment of osteoarthritis aimed at suppression of symptoms. We believe that effective therapy of osteoarthritis must terminate pathology changes in oxidative/antioxidative balance. The purpose of our work was to create effective check system for a further drug investigation.

Intradermal injection of bovine collagen II imitated the collagen-induced model of osteoarthritis in rats. We compared markers of the oxidative/antioxidative system in serum content (hydrogen peroxide, diene conjugates, TBA-reactive products, Schiff base, reduced glutathione, the activity of superoxide dismutase, catalase and glutathione oxidase).

Osteoarthritis caused intensification of free radical oxidation. The level of hydrogen peroxide increased in 2.5 comparing to control. Diene conjugates and TBA-reactive products showed 2.2 times raising. Levels of Schiff base grew in 1.8 times. Inflammation oppressed enzyme activity of the oxidative system. Superoxide dismutase and catalase decreased in 1.5 times. The glutathione-dependent defense system was decreased.

The osteoarthritis impacts local violation of cartilage. Animal models help to create pathology conditions. We start to use the collagen-induced model of osteoarthritis. The advantage of the model is the participation of host immune system in the development of the pathology. Our results show increasing of free radical oxidation, oppressing of oxidative and glutathione defense systems. It helps us to monitor the effectiveness of therapy in further investigation.

Witaszek M., Pazontka-Lipinski P., Tkachenko H.

**EXERCISE-INDUCED BIOCHEMICAL ALTERATIONS IN THE SERUM OF HORSES
EXERCISED IN RECREATIONAL HORSEBACK RIDING**

*Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk, Poland
Arciszewski Str. 22B, 76-200 Slupsk, Poland
e-mail: pajo7@vp.pl; biology.apsl@gmail.com; tkachenko@apsl.edu.pl*

Blood consists of many components that play an essential role in supporting the increased metabolic rate during exercise by transporting oxygen, water, enzymes, electrolytes, nutrients,

and hormones to working muscles. Physical effort influences many parameters in the horse blood and since training should lead to a more efficient energy metabolism, it seems advisable to determine biochemical parameters during training session and in horses from different environments [Hinchcliff and Geor, 2008, Kirschvink et al., 2008, Fazio et al., 2011, Piccione et al., 2007-2011, Tkachenko et al., 2016]. Therefore, the goal of our study was to determine changes in some biochemical indices [alanine (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH)] of horses exercised in recreational horseback riding from Pomeranian regions during training session. Measurement of values of liver biomarkers (AST, ALT) and muscle damage indicator (LDH), followed by a variety of training programs, can help to better understand the acute and chronic effects of resistance training [Hinchcliff and Geor, 2008].

Thirteen healthy adult horses from Pomeranian region of Poland (aged 9.5 ± 2.4 years) were used. All horses have been participated in recreational horseback riding. Blood was drawn from jugular veins of the animals in the morning, 90 minutes after feeding, and immediately after exercise. Exercise started at 10:00 AM, lasted 1 hour and consisted from a ride of cross country by walking (5 min), trotting (15 min), walking (10 min), trotting (10 min), walking (5 min), galloping (5 min), and walking (10 min). The blood samples were assessed for alanine aminotransferase (ALT, E.C. 2.6.1.2) and aspartate aminotransferase (AST, E.C. 2.6.1.1), as well as lactate dehydrogenase activity (LDH, E.C. 1.1.1.27) before and after exercise. In order to find significant differences (significance level, $p < 0.05$) between states at before and after exercise, Wilcoxon signed-rank test was applied to the data [Zar, 1999]. All statistical analyses were performed using STATISTICA 8.0 software (StatSoft, Poland).

In our research, non-significant alterations of AST and LDH activities in horses involved in recreational horseback riding were observed. Moreover, ALT activity was increased by 15.7% ($p = 0.005$) during training session. The regular training lead to adaptive processes which provoke to changes in haematological and biochemical indices. The extent of changes depends on several factors: type of exercise, intensity of work (strength, duration and frequency) and individual variation. Physiological increases of ALT and AST have been shown to occur without any tissue destruction [Hinchcliff and Geor, 2008]. Aspartate aminotransferase is a cytoplasmic and mitochondrial enzyme that catalyzes the deamination of aspartate to form oxaloacetate, which can enter the Krebs cycle [Andrews et al., 1995]. Increases in plasma aminotransferases activity may be due to hepatocyte damage, muscle damage, or *in vitro* hemolysis [Andrews et al., 1995]. ALT is a pyridoxal-dependent enzyme that catalyzes the reversible transamination of L-alanine and α -ketoglutarate to form pyruvate and L-glutamate. The extent of changes in AST, ALT and LDH activities depends on the nature of the exercise [Hinchcliff and Geor, 2008]. Bashiri and co-workers (2010) found that resistance training for two months leads to non-significant increase in serum ALT and AST levels in non-athlete students. Therefore, non-significant changes in LDH and AST activity suggests a special form of adaptation, and if exercise stress is followed by proper recovery, it will prevent more damage to the liver and muscles [Bashiri et al., 2010]. LDH catalyzes a redox reaction, the reversible conversion between pyruvate and L-lactate. L-lactate formation consumes reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH_2) and generates oxidized nicotinamide adenine dinucleotide (NAD^+), whereas NADH_2 is produced during the oxidation of L-lactate to pyruvate. LDH converts pyruvate, the final product of glycolysis to lactate when oxygen is absent or in short supply, and it performs the reverse reaction during the Cori cycle in the liver (Andrews et al. 1995). In our study, non-significant change in LDH activity in the serum of horses during training session was noted. This may indicate a normal course of aerobic-anaerobic glycolysis in horses involved in recreational horseback riding during training session. Based on these results, it is concluded that the endurance exercises lead to specific metabolic changes accompanied by a redistribution of energy supply for improving of resistance to exercises and athletic performance of horses.

БОТАНІКА ТА ІНТРОДУКЦІЯ РОСЛИН BOTANY AND PLANTS INTRODUCTION

Андрейчук Р., Лишак М., Скибіцька М.

ВЕГЕТАТИВНЕ РОЗМНОЖЕННЯ ДЕЯКИХ ВИДІВ ЕФІРООЛІЙНИХ РОСЛИН В
УМОВАХ КУЛЬТУРИ БОТАНІЧНОГО САДУ ЛЬВІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО
УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

Ботанічний сад Львівського національного університету імені Івана Франка, м. Львів
e-mail: botsad@franko.lviv.ua

Andreychuk R., Lyshak M., Skybitska M. VEGETATIVE REPRODUCTION OF SOME AROMATIC PLANT SPECIES IN THE CONDITIONS OF CULTURE IN THE BOTANICAL GARDEN OF IVAN FRANKO NATIONAL UNIVERSITY OF LVIV. The results of vegetative reproduction of *Hyssopus officinalis* L., *Lavandula angustifolia* Mill. and *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) in the Botanical Garden are presented. It was found that 75–85% stalks of *H. officinalis* rooted in an open ground, 90% in a hothouse, 80–85% stalks of *L. angustifolia* rooted in an open ground, 90% in a hothouse, and these indicators for *R. officinalis* were 100% and 100 % respectively. The results obtained indicate that vegetative reproduction of valuable aromatic plant species (*H. officinalis*, *L. angustifolia*, *R. officinalis*) in the conditions of culture in the Botanical Garden of Ivan Franko National University of Lviv is highly promising.

В Україні основним районом вирощування та заготівлі ефіроолійних рослин є гірський Крим. Однак, через останні події (анексія Криму Росією, яка відбулася на початку 2014 року), виникла проблема запровадження промислового виробництва сировини ефіроолійних рослин в інших регіонах, зокрема, на території Західної України. До групи таких рослин належать види з родини Lamiaceae: *Hyssopus officinalis* L. (гісоп лікарський), *Lavandula angustifolia* Mill. (лаванда вузьколиста) і *Rosmarinus officinalis* L. (розмарин лікарський). *H. officinalis* – багаторічна трав'яна рослина (напівкущик), в природі поширений у Середземномор'ї і Середній Азії. *L. angustifolia* – багаторічний вічнозелений напівкущ. Батьківщиною лаванди вважають Середземномор'я, Канарські острови та Індію. *R. officinalis* – багаторічний невеликий вічнозелений кущик. Природний ареал виду – Середземномор'я.

Метою нашої роботи було дослідження особливостей вегетативного розмноження *H. officinalis*, *L. angustifolia* і *R. officinalis* в умовах культури Ботанічного саду. Дослідження проведено у 2016–2017 рр. на експериментальній ділянці колекції "Лікарські рослини" та у парнику оранжерейного комплексу субтропічних рослин захищеного ґрунту за загальноприйнятими методиками для ботанічних садів (Методика исследования при интродукции лекарственных растений, 1984). Вегетативне розмноження проводили здерев'янілими стебловими живцями. У парнику субстратом для живців була суміш піску і перліту. Перед висаджуванням у ґрунт і у парник живці витримували у стимуляторах: розчин корневину (експозиція 24 год.) та розчин соку алое (експозиція 24 год.). Для порівняння результатів живці витримували 24 год. у воді (контроль).

Проведеним дослідженням встановлено: укорінення живців *H. officinalis* у відкритому ґрунті – 75–85% (75% – контроль, 85% – корневін, 80% – сік алое), у парнику – 90% (90% – контроль, 90% – корневін, 90% – сік алое). Укорінення живців *L. angustifolia* у відкритому ґрунті – 80–85% (80% – контроль, 85% – корневін, 80% – сік алое), у парнику – 90% (90% – контроль, 90% – корневін, 90% – сік алое). Укорінення живців *R. officinalis* у відкритому ґрунті – 100%; у парнику – 100%. Варто зауважити, що укорінення спостерігалось як при відсутності стимуляторів (контроль), так і при витримуванні у розчині корневину чи у розчині соку алое.

Одержані дані свідчать, що вегетативне розмноження цінних видів ефіроолійних рослин (*H. officinalis*, *L. angustifolia*, *R. officinalis*) в умовах культури відкритого та захищеного ґрунту Ботанічного саду Львівського національного університету імені Івана Франка є особливо перспективним.

Андрійко М.

ОСОБЛИВОСТІ ІНТРОДУКЦІЇ ПСЕВДОТСУГИ МЕНЗІСА
У ЛІВОБЕРЕЖНУ УКРАЇНУ

Державний дендрологічний парк «Тростянець» НАН України
Україна, 16742, Чернігівська обл., Ічнянський р-н, с. Тростянець
тел./факс: (04633) 2-46-24, e-mail: dendropark@ukr.net

ANDRIYKO M. INTRODUCTION FEATURES OF PSEUDOTSUGA MENZIESSI TO THE LEFT-BANK UKRAINE TERRITORY. Based on the literary data analysis and expeditionary research results, brief historical piece of information is given about the North American species of *Pseudotsuga menziessi* (Mirb.) Franco and its introduction to the left-bank Ukraine territory. The research results of the species are given briefly on the basis of State arboretum «Trostanets» that belongs to the National Academy of Sciences of Ukraine.

Інтродукція – один із способів збереження та збагачення різноманіття рослин. Особливої уваги заслуговують види, введення яких у культуру в Україні не лише збільшуватиме біорізноманіття флори, а й матиме певну господарську цінність. Саме до таких рослин належить північноамериканський вид *Pseudotsuga menziessii* (Mirb.) Franco.

Рід *Pseudotsuga* відноситься до відділу голонасінні (Pinophyta), класу хвойні (Pinopsida) родини соснові (Pinaceae Lindl.). Протягом тривалого періоду таксономічне положення цього роду не було чітко визначено. Деякий час його відносили до сосен, потім – до ялин, секвой, тсуг і насамкінець виділили в самостійний рід.

Спочатку до складу роду включали 18 видів, 12 з яких відносили до північноамериканських і 6 – до азійських. Нині рід нараховує 5 видів, в тому числі 2 північноамериканських (*P. macrocarpa* (Vas.) Mayer та *P. menziessii* (Mirb.) Franco), і 3 азійських – *P. brevifolia* W.C. Cheng & L.K. Fu, *P. forrestii* Craib, *P. sinensis* Dode. Найбільш поширеною є *P. menziessii*, яку з 1826 року протягом майже півстоліття називали дугласією на честь англійського ботаніка Девіда Дугласа.

Масова поява псевдотсуги Мензіса в Україні відбулася завдяки Т. М. Бродовичу, який у 50–60-ті роки минулого століття створив лісові культури за її участю. Значний внесок щодо інтродукції виду у Закарпатті здійснив Я. М. Шляхта, який розробив рекомендації по сприянню природному поновленню екзота [Шляхта, 1982].

До «Тростянця» перші екземпляри *P. menziessii* у незначній кількості були завезені Регелем у 1886 році із Санкт-Петербурга. Всі рослини добре адаптувались до місцевих умов і виявились досить стійкими до існуючих несприятливих чинників навколишнього середовища, в тому числі хвороб та шкідників, характеризуються достатньою посухостійкістю, яка за шкалою О.А. Калініченка [Калініченко, 1978] оцінюється в 5 балів, зимостійкістю, яка за шкалою цього ж автора оцінюється 4 балами, та генеративним розвитком, який за даною шкалою також оцінюється у 4 бали.

Нині у дендропарку «Тростянець» чисельність *P. menziessii* досягла 112 різновікових екземплярів. Крона рослин добре розвинена, конічна з неправильно-кільчастим положенням гілок, кінці яких в молодому віці припідняті, а з віком дещо опущені. У затінених місцях значною мірою втрачає хвою. Характеризується задовільною репродуктивною здатністю. У насадженнях парку рослини у віці близько 120 років досягли 22 м. заввишки. У них спостерігається нормальне насінноношення. В наших умовах середня кількість насінин у

шишці коливається у межах 59–71 шт. Схожість насіння коливалась в межах 65–70%.

Висота однорічних рослин 5,5–6,9 см. На другий рік у сіянців відбувається ріст верхівкової бруньки і формується приріст довжиною до 2 см. Починається галуження головного кореня.

Таким чином, проведені дослідження показують, що види роду *Pseudotsuga* у дендрологічному парку «Тростянець» мають високий ступінь адаптації до умов навколишнього середовища і їх можна ефективно використовувати як у ландшафтних насадженнях, так і при створенні промислових плантацій.

Бухвал М. О., Прокопів А. І.

СТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ БРУНЬОК КУЛЬТИВАРІВ *CORNUS MAS L.*

Львівський національний університет імені Івана Франка

Вул. Грушевського, буд. 4, м. Львів, 79005 Україна

e-mail: maryashka_buhval@ukr.net

Bukhval M. O., Prokopiv A. I. STRUCTURAL FEATRES OF BUDS IN CULTIVARS OF *CORNUS MAS L.* We investigated the structural features of buds in twenty cultivars of *Cornus mas L.* which are cultivated in the Botanical Garden of Ivan Franko National University of Lviv. As a result of our studies it has been found differences between generative and vegetative buds, that make generative buds more adaptive for winter frost: pubescens and size of external scales, form and color of buds, number of scales.

Кількість, форма, розмір, забарвлення, структура бруньки, спосіб замикання брунькових лусок специфічні для кожного виду рослин і, поряд з іншими особливостями, слугують діагностичними ознаками для визначення виду, коли рослина знаходиться в безлистому стані. В нашому випадку, особливу увагу привернуло вивчення структурних особливостей бруньок культиварів роду *Cornus*, оскільки вони характеризуються високою морозостійкістю генеративних бруньок, незважаючи на значний ступінь диференціації частин зачаткових квіток.

Метою нашої роботи було дослідити структурні особливості бруньки двадцятиох культиварів *Cornus mas L.*, представлених у Ботанічному саду ЛНУ ім. Івана Франка.

Дослідження проводили навесні 2016 року. Нами було зібрано вегетативні і генеративні, пазушні та верхівкові бруньки. Матеріал перед дослідженням зберігали у фіксованому стані. Для фіксації використовували 70%-й спирт (етанол). Опис і структурний аналіз здійснювали наступним чином: 1) визначили за положенням і характером розташування бруньок на пагоні (супротивні, поодинокі, колатеральні, серіальні); 2) описували зовнішній вигляд бруньки та лусок (луски гладенькі чи вкриті волосками, бруньки стиснуті чи відігнуті в сторону, круглі чи загострені); 3) визначали кількість та особливості будови брунькових лусок на вегетативній та генеративній бруньці.

Аналіз вегетативних бруньок виявив, що для культиварів *Cornus mas* 'Elegant', 'Vydubekij', 'Original', 'Amber', 'Old Kyiv', 'Romere', 'Yellow', 'Olena' характерна яйцеподібна форма бруньки, верхівка загострена. А для культиварів 'Lukjanivskij', 'Semen', 'kostja', 'Eugenia', 'Red Star', 'Joy', 'Volodymyrskij', 'Happy Face', 'Coral' притаманна еліптична форма бруньок. Для всіх культиварів характерне серіальне розміщення бруньок на пагоні, темно-зелене забарвлення брунькової луски. Вегетативні бруньки покриті двома щільно прилеглими по краях бруньковими лусками 5–5,2 мм завдовжки і 2–3 мм завширшки. Зовнішні брунькові луски оголені, без опушення.

Аналіз генеративних бруньок виявив, що для культиварів *Cornus mas* 'Lukjanivskij', 'Elegant', 'Vydubekij', 'Original', 'Joy', 'Happy Face', 'Coral' характерна округла форма бруньки із загостреним кінцем. А для *C. mas* 'Yellow', 'Olena', 'Volodymyrskij', 'Rose

mlanber', 'Romere', 'Red Star', 'Eugenia', 'Semen', 'Old Kyiv', 'Amber' – яйцеподібна форма бруньки. Генеративні бруньки за положенням пазушні, вкриті чотирма бруньковими лусками, розташованими в два кола. Брунькові луски зовнішнього кола 4–7 мм завдовжки і 3–4,5 мм завширшки. Поверхня лусок у них опушена, що властиво для зимуючих та морозостійких бруньок. Забарвлення лусок брудно-жовте. В середині бруньки наявні 15–28 дрібних золотисто-жовтих квіток, зібраних в зонтикоподібне суцвіття.

Отже, такі особливості бруньок як опушеність та розміри зовнішніх лусок, форма бруньки, є відмінними у досліджених сортів *Cornus mas*. Адаптивними властивостями генеративних бруньок, які підвищують їхню морозостійкість, є: більші розміри, їх опушеність, наявність чотирьох брунькових лусок, а не двох, як у вегетативних бруньок.

Дорошук Є.¹, Скворцова М.², Мегалінська Г.², Ісаченко О.¹

**АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ТА ГЕМАГЛЮТИНУВАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ
БУЛЬБ *HELIANTHUS TUBEROSUS* L.**

¹ Київська мала академія наук
вул. Дегтярівська 31А, м.Київ, Україна

² Національний педагогічний університет ім. М.П. Драгоманова
вул. Пирогова 9, м.Київ, Україна
e-mail: kokosusche@gmail.com

Doroshuk E.¹, Skvortsova M.², Mehalinska G.², Isachenko O.¹ ANTIBACTERIAL AND HEMAGGLUTINATE PROPERTIES OF THE *HELIANTHUS TUBEROSUS* L. TUBERS. The work presents data on antibacterial activity and fungicidal effects of water and lectin extract of Jerusalem artichoke tubers. The work also contains results of the experiment about the effect of Jerusalem artichoke tubers on the state of health, activity and mood.

Топінамбур, або земляна груша, широко використовується як лікарська та харчова рослина. З бульб топінамбуру готують настій на вині для лікування серцево-судинних захворювань, а також використовують як сечогінний засіб та засіб з послаблювальною дією. Свіжим соком сирої бульби користуються для нормалізації кислотності шлункового соку. Є дані про гіпотензивні властивості топінамбуру [Гродзинський А.М. 2001] та про його регенераційний потенціал. У народній медицині України земляна груша відома як дієвий засіб лікування цукрового діабету й ожиріння. В деяких роботах [Мегалінська Г.П. 2012] показана цитостатична активність бульб топінамбуру.

За даними Грицай М.П., культура *Helianthus tuberosus* сприяє підвищенню імунологічного статусу і зменшенню рівня хронічних захворювань, пов'язаних з порушенням обмінних процесів (цукровий діабет, атеросклероз). Позитивна дія *Helianthus tuberosus* на організм людини зумовлена особливостями його хімічного складу. Бульби топінамбуру містять до 14% інуліну, що засвоюється організмом без участі інсуліну, та майже всі незамінні амінокислоти. В топінамбурі багато вітамінів (каротин, поліфеноли, біотин), та макро- і мікроелементів. Похідні фенольних сполук мають різноманітну фітотерапевтичну дію, в тому числі і на настрій. В той же час в літературі відсутні дані про дію фітогемогліутинінів цієї рослини, та вплив топінамбуру на показники самопочуття, активності та настрою людини.

Гемаглютинуюча активність оцінювалась методом Луцика А.Д., антибактеріальна – методом паперових дисків. Тест-культурами було обрано *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* та *Candida albicans*.

Вплив топінамбуру на показники самопочуття, активності та настроїв вивчалися за допомогою анкети САН. Респондентами виступали студенти КПУ ім. М.П. Драгоманова.

Як свідчать результати проведеного дослідження лектини топінамбуру викликають

незначну аглютинацію еритроцитів всіх чотирьох груп крові людини. В зв'язку з цим було проведено дослідження антибактеріальної активності як водної так і лектинової витяжок з бульб топінамбуру.

Проведений експеримент свідчить, що найбільшу антибактеріальну активність виявила лектинова витяжка з бульб топінамбуру відносно *Staphylococcus aureus*: зона гальмування 14 мм. Водна витяжка з цієї ж сировини також виявила антибактеріальну активність, але на 40% меншу.

24 студента під час навчального процесу свідчать про те, що самопочуття підвищується на 8,2%, активність – 6,7%, настрій – 12,4%. Представлені дані можуть поповнити спектр лікарського застосування сировини *Helianthus tuberosus* L.

Качур С.

ТРАВ'ЯНА РОСЛИННІСТЬ ПІВНІЧНО-ЗАХІДНОЇ ЧАСТИНИ ЗОЛОЧІВСЬКОГО Р-НУ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул.Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна
e-mail: kachursolomia@gmail.com

Kachur S. THE GRASSLAND VEGETATION IN NORTH-WESTERN PART OF ZOLOCHIV DISTRICT. The plant communities of limestone soils have been described and processed according to Braun-Blanquet method in Zolochiv district of North Podillia. It was classified as the vegetation of Festuco-Brometea class. These communities belong to the following associations: *Carici humilis-Brachypodietum pinnati* Soó (1942) 1947 та *Carici humilis-Festucetum valesiacae* Klika 1951 both from union *Festucion valesiacae* Kolbek in Moravec et al.; *Adonidi-Brachypodietum pinnati* (Libb. 1933) Krausch 1960, *Asteri-Linetum flavae* Glaczek 1968, *Thalictro-Salvietum pratensis* Medw.-Kornaš 1959 from union *Cirsio-Brachypodion pinnati* Hadač et Klika 1994 em Krausch 1961.

Дослідження трав'яної рослинності Північного Поділля, як і рослинності всієї України проводилися переважно на засадах домінантної класифікації. Метод Браун-Бланке на дослідній території почали використовувати з 90-х років XX ст. Незважаючи на те, що історія вивчення флори та рослинності Подільської височини нараховує понад 200 років, екстраординальні трав'яні угруповання на сьогодні залишаються малодослідженими.

Метою нашої роботи є вивчення трав'яної рослинності Північного Поділля, зокрема і угруповань, які формуються на виходах карбонатів в умовах утворення рендзинів. Протягом вегетаційного сезону 2016 року нами були проведені польові дослідження, під час яких було описано низку рослинних угруповань в околицях сіл Словіта, Митулін, Жуличі та Верховуж з використанням методики Браун-Бланке. В подальшому фітоценологічні описи були опрацьовані та класифіковані за допомогою програми TURBOVEG і продромусів [Соломаха, 2008; Matuszkiewicz, 2001; Janišová, 2007; Chytrý та ін., 2007].

Описані нами рослинні угруповання було віднесено до класу *Festuco-Brometea* Br.-Bl. et Tx. 1943, порядку *Festucetalia valesiacae* Br.-Bl et R.Tx. 1943, двох союзів *Festucion valesiacae* Kolbek in Moravec et al. 1983. та *Cirsio-Brachypodion pinnati* Hadač et Klika 1994 em Krausch 1961, які чітко відрізняються за флористичним складом.

До союзу *Festucion valesiacae* належать дві асоціації *Carici humilis-Brachypodietum pinnati* Soó (1942) 1947 та *Carici humilis-Festucetum valesiacae* Klika 1951, які формуються часто при надмірному випасі, на ґрунтах багатих вапняками та переважно займають схили південних експозицій.

До союзу *Cirsio-Brachypodion pinnati* Hadač et Klika 1994 em Krausch 1961 належать найбільш мезофітні угруповання, які відзначаються багатим флористичним складом (45–57 видів у описі). Даний союз представлений трьома асоціаціями *Adonidi-Brachypodietum pinnati* (Libb. 1933) Krausch 1960, *Asteri-Linetum flavae* Glaczek 1968, *Thalictro-Salvietum pratensis* Medw.-Kornaš 1959.

Слід зазначити, що біотопи класу *Festuco-Brometea* охороняються на міжнародному рівні відповідно до Директиви 92/43/ЕЕС та є важливими для орхідних [Interpretation Manual of European Union Habitats, 2013]. У складі угруповань виявлено види, які занесені до Червоної книги України [Червона Книга, 2009], *Adonis vernalis* L., *Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer, Kulcz. et Pawł., *Daphne cneorum* L., *Orchis militaris* L., *Platanthera bifolia* (L.) Rich., *Pulsatilla grandis* Wender., *Trifolium rubens* L., *Carlina cirsioides* Klokov, *Chamaecytisus albus* (Hacq.) Rothm. Зокрема, із списку МСОП знайдено один вид (*Carlina onopordifolia*), із Додатку Бернської конвенції – два види (*Carlina onopordifolia*, *Pulsatilla grandis*). Дев'ять видів рослин охороняються на регіональному рівні: *Adonis vernalis*, *Astragalus danicus* Retz., *Carlina acaulis* L., *Centaurea stricta* Waldst. et Kit., *Coronilla coronata* L., *Hypericum elegans* Steph., *Iris hungarica* Waldst. et Kit., *Orobanche lutea* Baumg., *Jurinea calcarea* Klok. [Офіційні переліки регіонально рідкісних рослин адміністративних територій України, 2012].

Клімович Н., Одінцова А.

ДІАГНОСТИЧНІ ОЗНАКИ ПЛОДІВ У ВИДІВ РОДУ *EPILOBIUM* L. ФЛОРИ УКРАЇНИ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: natalia.hmara777@gmail.com

Klimovych N., Odintsova A. THE FRUIT DIAGNOSTIC CHARACTERS OF THE GENUS *EPILOBIUM* L. IN THE UKRAINIAN FLORA. In the Ukrainian flora 19 species of the genus *Epilobium* (Onagraceae) were referred in the literature. It was revealed that fruit length is very variable character in *Epilobium* species depending on the fruit location on the shoot system, while pubescence of the fruit is more stable character. This character is difficult to analyze because of the very small size and amount of glandular hairs. The proposal is to investigate the pericarpium anatomy as diagnostic feature in the genus.

Родина Onagraceae у флорі України представлена п'ятьма родами: *Epilobium*, *Oenothera*, *Circaea*, *Ludwigia*, *Clarkia*, з яких рід *Epilobium* налічує найбільше видів, більшість з яких поширена в лісовій зоні, переважно у Карпатах. Рід *Epilobium* у флорі України охоплює від 15 видів (Флора УРСР, 1955) до 19 видів (Mosyakin Fedoronchuk, 1999). В літературі вказується велика кількість гібридів між видами роду *Epilobium* (Флора УРСР, 1955). Квітки в роді *Epilobium* чотиричленні, з лінійною нижньою зав'яззю і коротким гіпантієм. Пелюстки переважно рожеві, вільні, приймочка булавоподібна або чотирилопатева. Рід *Epilobium* характеризується довгою чотиригранною локулічною коробочкою і насінинами з пучком довгих волосків. Фізіономічно види роду *Epilobium* дуже подібні, тому актуально шукати нові діагностичні ознаки для визначення видів. Період плодоношення зазвичай більш тривалий, ніж період цвітіння, тому ознаки плоду довше доступні для дослідження в природі, ніж ознаки квітки. У зв'язку з цим доцільно детально вивчити відмінності у будові плодів у видів роду *Epilobium*, хоча раніше більшість дослідників більше уваги приділяли квітці, а не плоду. Ознаки плодів і насінин вже використовувались у систематиці роду *Epilobium* з Африки та Америки (Raven 1967, Seavey et al., 1977; Solomon S. 1982). Метою нашої роботи було з'ясувати перелік анатомо-морфологічних ознак плоду, які використовуються для визначення представників роду *Epilobium* флори України та проаналізувати їхню діагностичну цінність.

Нами було проаналізовано гербарні зразки з гербаріїв: Гербарій Львівського національного університету імені Івана Франка (LW) і Гербарій Державного природознавчого музею НАН України у Львові (LWS), які належать до видів роду *Epilobium*; опрацьовано різні визначники (Флора СРСР, 1949; Флора северо-востока европейской части СССР, 1976; Флора Восточной Европы, 1976; Определитель растений, 1986; Exkursionsflora von Österreich, 1994; Флора УРСР, 1995; Exkursionsflora von Deutschland, 1999; Губанов, 2003; Flora Nardica, 2010;

Маевский, 2014). За результатами проведених досліджень було встановлено, що для діагностики представників роду *Epilobium* використовують наступні ознаки: форма приймочки, форма насінини, довжина плоду, тип опушення плоду, а також форма листків, форма країв листової пластинки і опушення стебла та ін. Плоди у видів роду *Epilobium* мають опушення з різних типів волосків – простих, залозистих і серповидних, які є діагностичними ознаками для різних видів. Зокрема, прості волоски характерні для видів *E. adenocaulon*, *E. alpestre*, *E. alpinum*, *E. collinum*, *E. hirsutum*, *E. obscurum*, *E. parviflorum*, *E. pseudorubescens*, *E. roseum*, *E. tetragonum*, залозисті волоски характерні для *E. adenocaulon*, *E. alpestre*, *E. alsinifolium*, *E. lamyi*, *E. lanceolatum*, *E. montanum*, *E. parviflorum*, *E. roseum*, серповидні волоски характерні для *E. collinum*, *E. palustre*. Виявлено, що довжина плоду є дуже мінливою ознакою і залежить від розташування плоду на головному чи бічному пагоні, а тип опушення є більш стійкою діагностичною ознакою. Проте, типи опушення у видів роду *Epilobium* важко аналізувати через дуже малий розмір залозистих і серповидних волосків, про що зазначено у визначнику (Exkursionsflora von Österreich, 1994). Для більш ретельного вивчення представників роду *Epilobium* флори України доцільно здійснювати пошук нових діагностичних ознак, зокрема в анатомічній будові перикарпія (Одінцова, Клімович, 2016).

Краснінкова І. Л., Іванніков Р. В.

КРІОЗБЕРЕЖЕННЯ НАСІННЯ *PAPHIOPEDILUM TONSUM* (RCHB.F.) STEIN.

Національний ботанічний сад ім. М. М. Гришка НАН України
вул. Тимірязєвська, 1, Київ, 01014 Україна
e-mail: krasnienkova.iryana@gmail.com

Krasnienkova I.L., Ivannikov R.V. CRYOPRESERVATION OF *PAPHIOPEDILUM TONSUM* (RCHB.F.) STEIN SEEDS. The objective of this study is to determine the best way to store seeds. Main attention was paid to seed storage with liquid nitrogen. It is shown that under cryopreservation *Paphiopedilum tonsum* seeds retain the ability to germinate during 4 months.

Сьогодні не існує бодай жодної технологічної причини через яку б людство мало втрати хоча б один вид світової фауни чи флори. Серед усього арсеналу біотехнологічних методів найбільш доступними та вживаним є процедури розмноження рослин в контрольованих асептичних умовах. Натомість методи кріозбереження клітин, тканин та органів рослин є у стадії активної розробки.

З представниками родини Orchidaceae Juss. наразі проводяться роботи щодо опрацювання процедур тривалого їх зберігання у рідкому азоті. В даному випадку запорукою успіху експериментів є вдалий вибір об'єкту депонування. Завдяки особливостям структури, насіння та пилок орхідних є ідеальними об'єктами для кріозбереження, оскільки не потребують кріопротекторів і складних методів захисту від пошкоджуючих дій наднизьких температур [Pritchard, 1984; Никишина і др., 2001, 2003; Іванніков, 2012].

P. tonsum – ендемічний вид острова Суматра, який зустрічається в північній і центральній частині острова на висотах 1000–1800 м н. р. м. [Cribb Ph., 1998]. З нашого досвіду, насіння даного виду при пророщуванні *in vitro* характеризується низькою схожістю (близько 2 %). Схожість втрачається упродовж 30 діб.

Насінний матеріал, використаний в роботі, було отримано шляхом перехресного запилення екземплярів даного виду з фондової колекції орхідних НБС, яка з 1999 року є об'єктом Національного надбання України.

Приготування живильних середовищ, стерилізацію насіння, його посів і культивування проводили відповідно до рекомендацій Т.М. Черевченко [Черевченко та ін., 2008].

Насіння стерилізували, просушували та заморожували в рідкому азоті. Контролем було насіння, яке зберігалось при температурі +10 °

В результаті проведеної роботи нами показано, що насіння *P. tonsum* успішно піддається заморожуванню/розморожуванню, а його життєздатність, у такий спосіб, можна продовжити у чотири рази.

Мощенко Я. Г.

НАСІННЄВА ІНФЕКЦІЯ СОЇ В УМОВАХ ЗАХІДНОЇ УКРАЇНИ

Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна, біологічний факультет
кафедра мікології та фітоімунології, пл. Свободи 4, м. Харків, 61022, Україна
e-mail: moshchenko.yaroslav@gmail.com

Moshchenko Y. SEED-BORN INFECTION OF SOYBEAN IN THE WESTERN UKRAINE. Soybean seeds from the western Ukraine were analyzed for seed-borne infection and germination. Germination ranged between 73,8–95,1%. The main component of internal seed infection was *Fusarium* spp. (4,8–55,0%). Percent of seeds infected by soybean mosaic virus varied from 3,6% to 12,9%. External infections were represented by molds *Alternaria alternata* (av. 66,3%), *Aspergillus* spp. (av. 2,6%), *Cladosporium* spp. (av. 35,8%), *Penicillium* spp. (av. 46,6%). In single samples were found the sclerotia of *Botrytis cinerea*, *Verticillium* sp., *Phomopsis* sp., *Sclerotinia sclerotiorum*.

Соя культурна (*Glycine max* (L.) Merr.) – цінна технічна культура, яка з кожним роком набуває все більшої популярності серед аграріїв України. З початку дев'яностих років ХХ ст. площі під соєю виросли більше ніж у двадцять разів. Це обумовлено її стабільною врожайністю та широким використанням у різних галузях господарчої діяльності [Бабич, 2011].

Одним з основних джерел поновлення хвороб сої під час її промислового вирощування є хворе насіння. Ураження насіннєвого матеріалу мікроскопічними грибами, бактеріями та вірусами значно впливає на життєздатність проростків та подальший розвиток хвороб в період вегетації. Від природи та ступеню розвитку насіннєвої інфекції залежить вибір технологій захисту рослин, зокрема підбір протруйника. Серед грибів, що колонізують насіння сої є чимало продуцентів мікотоксинів, що робить продукти з нього небезпечними для вживання людиною та тваринами [Ahmed, 2016]. Тому аналіз насіннєвої інфекції сої має велике практичне значення.

Матеріалом нашої роботи слугували зразки насіння 6 сортів сої (Богеміанс, ДХ618, Каната, Кордоба, Ментор та Сігалія) врожаю 2016 р., вирощених на території Івано-Франківської області. Цей регіон України характеризується стабільно високою кількістю опадів і є сприятливим для розвитку хвороб сої. Використовували методи пророщування насіння в рулонах фільтрувального паперу та в умовах вологої камери, а також розміщення зразків насіння на поживний картопляно-глюкозний агар в чашки Петрі.

Схожість зразків насіння варіювала в діапазоні 73,8–95,1%, маса 1000 насінин коливалась від 152,0 до 194,3 г. Показник травмованості насіння досягав 13% (для сорту Богеміанс). Для виявлення ризику розвитку бактеріозів сходів насіння пророщували в герметично зачинених ємностях в умовах стресу (надлишку води). Встановлено, що загибель рослин через бактеріоз варіювала від 3,2% для сорту Богеміанс до 31,8% для сорту ДХ618.

За характерними візуальними симптомами (метеликове забарвлення в зоні рубчика) оцінено потенційне ураження вірусом соєвої мозаїки, яке варіювало від 3,6% у сорту Сігалія до 12,9% у сорту Богеміанс. Досліджуване насіння значною мірою було колонізоване пліснявими грибами *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. (48,1–95,7%, середнє 66,3%), *Aspergillus* spp. (0–10,6%, середнє 2,6%), *Penicillium* spp. (4,5–85,7%, середнє 46,6%) та *Cladosporium* spp. (0–100%, середнє 35,8%). У поодиноких пробах була виявлена інфекція *Botrytis cinerea* Pers., *Verticillium* sp., *Phomopsis* sp. та домішки склеротіїв гриба *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary. Ознак церкоспорозу (*Cercospora kikuchii* (Tak. Matsumoto et Tomoy.) M.W. Gardner) у зразках врожаю 2016 р., на відміну від результатів попереднього року, не виявлено. Основним компонентом внутрішньої насіннєвої інфекції виявився фузаріоз (збудники – *Fusarium* spp.), ураження яким варіювало від 4,8 до 55,0%.

Полатайко Т.

АНАЛІЗ ФЛОРИ ВЕРШИНИ ГОРИ ХОМ'ЯК

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського 4, 79005, Львів, Україна

e-mail: polataikotania@gmail.com

Polataiko T. THE ANALYSIS OF THE FLORA OF MOUNTAIN HOMIAK. Systematic, biomorphological structure of the flora of top of the mountain Homiak are analysed. According to the research results, there are 46 species of vascular plants and 5 species of lichens in this region. They belong to 27 families and 42 genera. 2 species of the study area are listed in the Red Book of Ukraine.

Гора Хом'як – вершина у південно-східній частині Горган, заввишки 1542 м н. р. м., розташована в межах Карпатського національного природного парку. На сьогодні дані про рослинний покрив цього Карпатського масиву фрагментарні і несистематизовані, відсутні узагальнюючі флористичні роботи. У зв'язку з цим важливе значення мають детальні флористичні дослідження.

Конспект флори вершини гори Хом'як складено на основі власних гербарних зборів. Польові дослідження проводили протягом червня-липня 2015 року. Видовий склад флори досліджували маршрутным методом понад верхньою межею лісу. Види рослин визначали за «Определителем высших растений Украины» (1987), «Визначником рослин Українських Карпат» (1977). Систематичну структуру для покритонасінних подано за А. Л. Тахтаджяном (2009), для голонасінних – С. І. Кузнецовим (2013), для лишайників – Л. М. Фюндером (2002), для плауноподібних та папоротеподібних – С. Л. Мосякіним (2010), для бріофітів – згідно з «Чекліст мохоподібних України» (2008). В основу біоморфологічного аналізу покладено лінійну систему В. Н. Голубєва, біологічні типи виділено за К. Раункієром.

На дослідженій території виявлено 46 видів судинних рослин та 5 видів лишайників. Ці види належать до 6 відділів, 27 родин, 42 родів. Абсолютна більшість представлена видами відділу *Magnoliophyta* (33 види). Відділ *Pinophyta* представлений 4 видами, *Pteridophyta* – 2, *Lycopodiophyta* – 1, *Bryophyta* – 6, *Ascomycota* – 5.

Перше місце у спектрі провідних родин флори за кількістю видів посідають родини *Asteraceae* та *Poaceae*, що об'єднують по 6 видів кожна. Родина *Rosaceae* налічує 5 видів. Родини *Ericaceae*, *Pinaceae*, *Cladoniaceae* налічують по 3 види. Три родини *Scapaniaceae*, *Dryopteridaceae*, *Fabaceae* місять по 2 види. Решта 42 родини включають по 1 виду.

У родовому спектрі флори всі роди в кількісному співвідношенні є дуже бідними. Із 42 родів лише один (*Cladonia*) налічує 3 види, 7 родів (*Scapania*, *Dryopteris*, *Pinus*, *Hieracium*, *Rubus*, *Vaccinium*, *Trifolium*) – по 2 види, а решта родів є одновидовими.

Перше місце у спектрі життєвих форм вершини гори Хом'як посідають гемікриптофіти – 22 види. Друге місце посідають хамефіти та фанерофіти (по 9 видів), третє – криптофіти (4 види).

Біоморфологічний аналіз показав, що у флористичному спектрі досліджуваної ділянки переважають трав'яні рослини – 28 видів (54,9%). На другому місці розташовуються кущі – 8 видів (15,86%), на третьому дерева – 4 (7,84%).

Також на вершині гори Хом'як було виявлено 2 види занесених до Червоної книги України. Знайдено три локалітети *Pinus cembra* (VU) на південному макросхилі вершини на висоті 1500–1520 м н. р. м., та два – *Huperzia selago* (NE) – на кам'яних розсипах серед заростів *P. mugo* і в ялиновому лісі на висоті 1400 м н.р.м.

Пушак У., Скибіцька М.

**СХОЖІСТЬ ТА ОСОБЛИВОСТІ ПРОРОСТАННЯ НАСІННЯ В УМОВАХ КУЛЬТУРИ
БОТАНІЧНОГО САДУ ЛЬВІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ
ІВАНА ФРАНКА**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул.Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна
e-mail: ulianapushchak@gmail.com*

Pushchak U., Skybitska M. Germinating ability of *Salvia officinalis* L. seeds in the Botanical Garden of Ivan Franko National University of Lviv. The results of study on germinating ability of *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae) are presented. By quality of seed germination the success of the introduction of species has been evaluated: the average rate of germination and germination energy of freshly harvested seeds amounted to 35% in the laboratory conditions. The seeds start to germinate in 7 days and retain the ability of germination for five years of storage in the laboratory. The data obtained confirm that *Salvia officinalis* can be successful in pharmaceutical and ornamental planting.

Збагачення видового різноманіття та генофонду культурних рослин має як теоретичне, так і практичне значення. У Ботанічному саду Львівського національного університету імені Івана Франка з 90-х рр. XX ст. проводиться робота з інтродукції економічно цінних видів рослин. Одним із таких видів є шавлія лікарська – багаторічний напівкущ з родини Lamiaceae заввишки від 70 см до 1 м. Батьківщиною шавлії лікарської є Італія та південно-східна Європа (Греція, Албанія). Культивують у Греції, Італії, Франції, Україні, Чехії, Словаччині, республіках колишньої Югославії, Молдові, Росії (Північний Кавказ) як цінну лікарську, пряно-ароматичну, декоративну, ефіроолійну й медоносну культуру. Широко використовується у народній медицині багатьох країн світу. У працях італійських вчених зазначено, що у стародавньому Єгипті шавлію називали «Священною травою» та найкориснішим лікарським засобом, який допомагав при безплідді у жінок. Латинська назва *Salvia* означає «той, що рятує здоров'я», «бути здоровим». З давніх часів шавлію вважали ліками від усіх хвороб. Цей факт був зафіксований у працях Галена та Плінія Старшого. Спектр її фізіологічної дії на організм є настільки широким, що в різних країнах у різні епохи і в наш час рослину називають «священною травою», «рятівником життя», «травою безсмертя».

Метою нашої роботи було дослідження схожості та особливостей проростання насіння *Salvia officinalis* в умовах Ботанічного саду Львівського національного університету імені Івана Франка. Дослідження проведено у 2015–2017 р.р. на експериментальній ділянці колекції «Лікарські рослини» Ботанічного саду та у лабораторних умовах. Схожість та особливості проростання насіння вивчали за методиками І.В. Вайнагія, М.К. Фірсової та методичними вказівками з насінництва інтродуцентів. У роботі використовували насіння репродукції Ботанічного саду.

За результатами проведених досліджень та аналізу отриманих даних встановлено, що *Salvia officinalis* – цінна лікарська, ефіро-олійна, декоративна та медоносна рослина. Свіжозібране насіння *Salvia officinalis* у лабораторних умовах починає проростати на сьому добу після закладання досліду і характеризується середньою схожістю (35%) та енергією проростання. Насіння *Salvia officinalis* зберігає схожість упродовж п'яти років зберігання у лабораторних умовах. Маса 1000 насінин *Salvia officinalis* коливається в межах від 7,6–8,8 г. Насіння *Salvia officinalis*, зібране в умовах Ботанічного саду ЛНУ ім. Івана Франка, характеризується середніми посівними якостями.

Регада Л. В.^{1,2}, Митківська Т. І.², Джаган В. В.¹

ВИДОВЕ РІЗНОМАНІТТЯ МІКРОМІЦЕТІВ У ПОВІТРІ «МУЗЕЮ ІВАНА ГОНЧАРА»

¹ Навчально-науковий центр "Інститут біології та медицини"

Київського національного університету імені Тараса Шевченка

вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, 01601, Україна

² Національний науково-дослідний реставраційний центр України

e-mail: lyubo4ka.regeda@yandex.ru

Reheda L., Mytkivska T., Dzhagan V. SPECIES DIVERSITY OF MICROMYCETES IN THE AIR «IVAN HONCHAR MUSEUM». This text deals with micromycetes in the air museum. It was estimated the differences in species composition of fungi depending on the seasons.

Формування аеромікоти приміщень здійснюється як за рахунок зовнішніх джерел, так і за рахунок циркуляції спор в замкнених приміщеннях. Приміщення музеїв можна розглядати як штучні екосистеми, в яких сформувалась та існує специфічна мікобіота [Сергеева, 2000].

Метою роботи було дослідження мікробіологічного стану повітря Національного центру народної культури "Музей Івана Гончара" – відомого осередка українського національного відродження, де збережені різні прояви традиційної культури – краса народного побуту, християнські та національні ідеали українців, людські взаємини та спілкування з природою.

Відбір проб для аналізу мікобіоти повітря Музею проводили в 6-ти експозиційних залах та у 10-ти фондосховищах в опалювальний, неопалювальний та перехідний період (осінь). Проби відбирали аспіраційним методом (за допомогою приладу «Тайфун» (Р-40) при режимі: 5 хв.; 90 об/хв.; 30л/хв.). Культивування проводили в термостаті при температурі 26°C протягом 20 діб.

У результаті мікологічного моніторингу 6-ти експозиційних залів та 10-ти фондосховищ було встановлено 42 види мікроміцетів та *Mycelia sterilia*; 2 культури ідентифіковано до роду, виявлені актиноміцети та бактерії. Найбільш численними за кількістю видів були роди *Penicillium* (14 видів) та *Aspergillus* (9), *Candida* та *Mucor* (по 2 види). Інші роди представлені лише по 1 виду.

Видовий склад мікроміцетів у різні сезони обстеження дещо відрізнявся, проте *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries, *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx та *Mycelia sterilia* зареєстровані в усіх обстежених приміщеннях, а *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout – в чотирьох приміщеннях.

Така відмінність видового різноманіття може бути пояснена різницею мікрокліматичних параметрів (температури, відносної вологості повітря) та режимом опалення приміщень під час відбору проб повітря "Музею Івана Гончара".

Саган О., Скибіцька М.

БІОЕКОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ *SILYBUM MARIANUM* L.

В УМОВАХ КУЛЬТУРИ БОТАНІЧНОГО САДУ ЛЬВІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

Львівський національний Університет імені Івана Франка, м. Львів

e-mail: saganolunja@mail.ru

Sagan O., Skybitska M. GERMINATING ABILITY OF *SILYBUM MARIANUM* L. SEEDS IN THE BOTANICAL GARDEN OF IVAN FRANKO NATIONAL UNIVERSITY OF LVIV. The results of study on germinating ability of *Silybum marianum* (Asteraceae) are

presented. By seeds' sowing quality the success of the introduction of species has been evaluated: freshly harvested seeds in the laboratory have maximum rate of germination in the laboratory conditions (100 %) and germination energy (in 4–8 days germinate all viable seeds). After 10 years of storage in the laboratory (2007–2017) 81–100 % seeds germinated. The data obtained confirm that *Silybum marianum* can be successful in pharmaceutical and ornamental planting.

Ботанічний сад Львівського національного університету імені Івана Франка проводить збагачення культивованої флори видами з різних частин світу. Спеціалізованою колекцією з інтродукції лікарських рослин у ботанічному саду є колекція «Лікарські рослини», яка налічує понад 350 видів природної та чужоземної флори, серед яких є група рослин, які мають гепатопротекторні властивості. Такі рослини набувають особливого значення за умов погіршення стану довкілля, стресових станів, стрімких темпів розвитку сучасного суспільства. До таких рослин, які мають велику популярність і застосування в медицині належить розторопша плямиста (*Silybum marianum* (L.) Gaerth.) – однорічна або багаторічна трав'яниста рослина з родини Asteraceae. *Silybum marianum* широко культивується у Західній Європі, Малій Азії, Північній Америці, Північній Африці та південній частині Австралії. Батьківщина виду – Південна і Атлантична Європа.

Метою наших досліджень було вивчення особливостей проростання насіння *Silybum marianum* в умовах культури ботанічного саду Львівського національного університету імені Івана Франка. Дослідження проведено у 2014–2017 рр. на експериментальній ділянці колекції «Лікарські рослини» Ботанічного саду та у лабораторних умовах за загальноприйнятими методиками для ботанічних садів (Методика исследования при интродукции лекарственных растений, 1984; Методические указания по семеноведению интродуцентов, 1980; Былов, Карпионов, 1978). У роботі використано насіння репродукції Ботанічного саду.

За результатами проведених досліджень встановлено, що плід *S. marianum* – чорна сім'янка з сірими крапками і чубчиком із волосків на кінці, завдовжки 15–20 мм, блискуча, з темними поздовжніми плямами. Маса 1000 насінин – 23 г. Довжина насіння 6,0–8,0 мм, ширина 2,0–4,0 мм, товщина 1,5–3,3 мм. Свіжозібране насіння у лабораторних умовах має максимальну схожість (100%) та енергію проростання (за 4–8 діб проростає усе життєздатне насіння). Впродовж шести років зберігання у лабораторних умовах (2007–2017 рр.) схожість насіння становила 81–100%. Шкідниками не ушкоджується.

Одержані дані свідчать, що насіння *Silybum marianum* репродукції ботанічного саду ЛНУ ім. Івана Франка характеризується високими посівними якостями. Результати дослідження підтверджують, що насіннєве розмноження *Silybum marianum* є перспективним способом введення виду в культуру в умовах Лісостепової зони України.

Сенів М.

РАННЬОВЕСНЯНА ФЛОРА МІСТА МИКОЛАЄВА

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, 79005, Львів, Україна
e-mail: romanivmarichechka@gmail.com

Seniv M. THE EARLY SPRING FLORA OF MYKOLAIV (LVIV OBLAST). The early spring flora Analyzed of the city of Mykolaiv is analyzed. 50 species belonging to 44 genera and 26 families were collected and identified. A taxonomic analysis and analysis of life forms were performed. The species listed in the Red Book of Ukraine, the IUCN Red List and the list of rare and endangered plants of Lviv region were located. The dominate families are Asparagaceae and Ranunculaceae.

Дослідження біологічного різноманіття має велике значення для його збереження, розробки засобів і методів раціонального природокористування. Встановлення повного видового складу і детальний аналіз флори сприятимуть вирішенню багатьох питань флористики і фітогеографії. Метою нашої роботи було вивчення ранньовесняної флори міста Миколаєва. Результати даних досліджень доповнять список флори Опілля.

Миколаїв – районний центр Львівської області, розташований у західній частині Подільської височини – Опіллі, яке являє собою частину Львівського плато з абсолютними висотами в межах району 340–405 метрів. Опілля характеризується розчленованим рельєфом, наявністю горбистих гряд, розмежованих широкими долинами річок.

Польові дослідження ранньовесняної флори міста Миколаєва проводились навесні 2016 року екскурсійно-маршрутним методом.

На території дослідження виявлено 50 видів ранньоквітучих рослин, які належать до 44 родів і 26 родин, 14 з яких представлені одним видом. Слід зазначити, що такі види як *Allium ursinum* L., *Galanthus nivalis* L. і *Leucojum vernum* L. занесені до Червоної книги України з природоохоронним статусом – неоцінений [Дідух, 2009]. До червоного списку МСОП віднесені три види: *Galanthus nivalis* L. (NT), *Leucojum vernum* L. і *Equisetum arvense* L. (LC). На території дослідження знайдений вид, який увійшов до списку рідкісних та зникаючих рослин Львівської області – *Luzula sylvatica* (Huds.) Gaudin [Андрієнко, 2012].

Домінують, за кількістю видів, родини Asparagaceae і Ranunculaceae: вони налічують по п'ять видів. До провідних родин належать також Lamiaceae (4 види), Amaryllidaceae, Compositae, Papaveraceae і Plantaginaceae – по 3 види.

Представники ранньоквітучої флори проаналізовані за життєвими формами. Серед них домінують трави, які складають 98% від загальної кількості і кущі – 2%, деревних видів немає. Аналіз видів рослин за тривалістю життя показав, що чисельно переважають багаторічники (88%), менше було знайдено однорічників (8%) та дворічників (всього 4%). Зібрані попередні дані щодо ранньоквітучої флори регіону досліджень. Визначено місця виростання ранньоквітучих видів рослин і встановлені координати локалітетів рідкісних видів.

Сельська В., Скребовська С.

KLEBSORMIDIUM FLACCIDUM В АЛЬГОФЛОРИ ХЕРСОНЩИНИ

Херсонський державний університет

вул. 40 років Жовтня, 27, м. Херсон, 73000 Україна

e-mail: viktoria.selsckaya@yandex.ru, skribovskaya@ukr.net

Selska V., Skrebovska S. KLEBSORMIDIUM FLACCIDUM IN ALGAL FLORA OF KHERSON. We are researched soil algae *Klebsormidium flaccidum* (Kützinger) Silva, Mattox & Blackwell which was isolated from substrate stone on agar medium. Studied the morphological characteristics of algae and analyzed environmental affinity type. Established that algae has a broad ecological plasticity.

Klebsormidium flaccidum (Kützinger) Silva, Mattox & Blackwell – космополіт, що трапляється як на кам'янистих субстратах так і в ґрунті. Помірно вологолюбний, здатен формувати щільні розростання на затінених гранітних відслоненнях різних зон України та відігравати одну з провідних ролей у формуванні нагрунтових кірок, таким чином створюючи асоціації, в які входять багато інших видів одноклітинних водоростей [Karsten, 2010, 2012; Mikhailuk, 2015].

Дослідження водоростей роду *Klebsormidium* представлені у ряді робіт [Lokhorst, 1996, 2000; Sluiman, 2008; Rindi, 2008, 2011; Пурина, 2007, 2009; Михайлик та ін, 2013],

однак, морфологічні та екологічні особливості виду *Klebsormidium flaccidum* в альгофлорі Херсонщини вивчені ще не до кінця і вимагають подальшого дослідження.

Матеріалом роботи слугували проби водоростей, які були відібрані разом з частками субстрату з цегляних стін житлових будівель у навколишньому середовищі міста Херсон. Камеральне опрацювання зібраного матеріалу проводили культуральними методами, використовували рідке та агаризоване поживне середовище 3NBBM [Bishoff, Bold, 1963]. Визначення водоростей здійснювали на основі досліджень альгологічно чистих живих культур [Гайсина, 2008]. Для уточнення сучасних назв видів використовували базу даних www.algaebase.org.

В результаті дослідження у культуру було виділено зелену водорість – *Klebsormidium flaccidum*, що траплялась переважно у більшості відібраних проб. На твердому поживному середовищі цей вид формував різноманітні колонії – хвилясті та горбкуваті, гладенькі, кластероподібні, зеленого кольору. На рідкому середовищі спостерігали конгломерати ниток у рідині або гомогенний наліт. Таломи *Klebsormidium flaccidum* мали вигляд нерозгалужених довгих однорядних ниток, які у культурі легко розпадались до одноклітинного стану. Клітини циліндричні, морфологічно однакові, 8–12 мкм завдовжки, 6–12 мкм в діаметрі. Кожна клітина містила один пристінний пластинчастий хлоропласт з піреноїдом. У старих культурах спостерігали короткі нитки, клітини циліндричні, іноді легко здуті. Слиз відсутній.

Згідно з літературними даними, ця водорість характеризується широким спектром екологічних умов та витривалістю до висушування, що обумовлено її високою екологічною пластичністю. З цим можна цілком погодитися, враховуючи домінування представників видів роду *Klebsormidium* на кам'янистих відслоненнях і в ґрунтових кірках різних природних зон України [Костіков, 2001]. При масовому розвитку, водорості можуть викликати «цвітіння» водойм та ґрунту. Наразі проводяться молекулярно-філогенетичні дослідження виду, результати та їх обговорення будуть висвітлені у спеціальній публікації.

Скрипець Х., Одінцова А.

ПРОРОСТАННЯ ПИЛКУ НА ПРИЙМОЧЦІ *GLADIOLUS IMBRICATUS* L.
ТА *IRIS SIBIRICA* L. (IRIDACEAE)

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, 79005, Львів, Україна
e-mail: xrustysja-skrypec@ukr.net

Skrypec C., Odintsova A. POLLEN GRAINS GERMINATION ON STIGMA IN *GLADIOLUS IMBRICATUS* L. AND *IRIS SIBIRICA* L. In *Gladiolus imbricatus* germinated pollen grains were observed on stigma at the last day of anthesis after native and manipulated autogenous and xenogenous pollination. In *Iris sibirica* only xenogenous pollen grains germinated on stigma at the first and the last days of anthesis.

У флорі України родина Iridaceae налічує близько 35 видів, серед яких є рідкісні види *Gladiolus imbricatus* L. та *Iris sibirica* L. Для видів роду *Gladiolus* L. вказана можливість самозапилення в останній день цвітіння, проте для роду *Iris* L. таких даних немає (Цвелев, 1982). Метою нашого експерименту було з'ясувати здатність автогенного та ксеногенного пилку цих видів проростати на приймочці в різний час протягом цвітіння. Квітки ізолювали чохликом з пластикової сіточки та штучно запилювали автогенним та ксеногенним пилком. Після запилення квітки обривали з різним інтервалом часу: через 5 хв., 15 хв., 30 хв., 1 год., 3 год., 6 год., 12 год., 24 год. та фіксували протягом 24 год. в оцтовому алкоголі (3:1) після чого зберігали в 70% етанолі. Відпрепаровані приймочки фарбували 0,1% метиленовим синім та розглядали під світловим мікроскопом.

Запилюючи квітки автогенним пилом у перший день цвітіння ми не виявили пророслі пилові зерна на приймочці протягом всього періоду дослідження (від 5 хв. до 24 год.) в обох видів. При запиленні ксеногенним пилом в перший день цвітіння у *Gladiolus imbricatus* через 30 хв. після запилення ми спостерігали початкове проростання пилку і появу поодиноких коротких пилових трубок. В *Iris sibirica* проростання ксеногенного пилку спостерігали лише через 3 год. після запилення. Аналогічне дослідження здійснювали в останній день цвітіння квітки. Квітки *Gladiolus imbricatus* запилювали автогенним пилом на третій день цвітіння (після обіду) і через 6 год. спостерігали велику кількість пророслих пилових зерен з великою довжиною пилових трубок. У запилених автогенним пилом квітках *Iris sibirica* на другий день цвітіння (зранку) через 6 год після запилення спостерігали пилові зерна без пилових трубок.

Таким чином, проростання пилку на приймочці *Gladiolus imbricatus* та *Iris sibirica* в перший день цвітіння не спостерігалось при штучному запиленні автогенним пилом та здійснювалось при запиленні ксеногенним пилом. Запилення автогенним пилом в останній день цвітіння призводить до росту пилових трубок тільки в *Gladiolus imbricatus*.

Другою частиною експерименту було дослідження проростання пилку після природного запилення в емаскульованих та інтактних квітках, в яких різними способами запобігалось гейтоногенне запилення. В не ізольованих емаскульованих квітках в перший день цвітіння в обох видів спостерігали пилові зерна на приймочці, що свідчить про рецетивний стан приймочки. В останній день цвітіння на приймочці виявлена велика кількість пилку з довгими пиловими трубками. Тому можна стверджувати, що квітки досліджуваних видів протягом періоду цвітіння інтенсивно відвідують комахи і забезпечують природне запилення ксеногенним пилом шляхом ентомофілії. В ізольованих квітках з пиляками в *Gladiolus imbricatus* в перший день цвітіння не виявлено пилових зерен на приймочці, що означає відсутність самозапилення. Проте в останній день цвітіння на приймочці *Gladiolus imbricatus* були виявлені пилові зерна з довгими пророслими пиловими трубками, що підтверджує здатність цього виду до самозапилення в межах квітки (автогенію) наприкінці цвітіння шляхом контактофілії. Пилок на приймочці ізольованої квітки *Iris sibirica* не був виявлений ні в перший, ні в останній день цвітіння, що означає відсутність механізму природного самозапилення.

Сойма М. В.

АНАЛІЗ АПОФІТНОЇ ФРАКЦІЇ УРБАНОФЛОРИ МІСТА УЖГОРОДА

ДВНЗ «Ужгородський національний університет», кафедра ботаніки
вул. А. Волошина, 32, м. Ужгород, 88000, Україна
e-mail: aleksik_m@ukr.net

Soyma M. ANALYSIS OF APOFITNA FRACTION of UZHGOROD URBAN FLORA.

Apoftna fraction unites native species growing on anthropogenic habitats. Analysis of apofitna fraction of Uzhgorod flora revealed that 267 species from 15 families, 161 genus, 31 order in the study region belong to it. Apofitna fraction is represented by: evapofity – 110 species, hemiapofity – 120 species, apofity not stable (37 species) are represented by antropobnyy element of anthropogenic habitats.

Аналіз структури будь-якої фракції урбанوفлори, є важливим, тому що дозволяє встановити сучасний стан урбанوفлори, порівняти її аборигенний та не аборигенний компоненти та з'ясувати тенденції її подальшого розвитку. Аналізуючи апофітну фракцію урбанوفлори міста Ужгорода ми використовували термінологію запропоновану В.В. Протопоповою, в основу якої покладено можливість та ступінь адаптації рослин до трансформованих екоотопів. [Протопопова, 1991]. Апофітна фракція об'єднує аборигенні види, що ростуть на антропогенних місцезростаннях.

Аналіз апофітної флори дозволив встановити, що у досліджуваному регіоні до неї відносяться – 267 видів із 15 родин, 161 роду, 31 порядку. У характеристиці кожного виду наведено: класифікацію видів апофітів (евапофіти, геміапофіти, нестійкі апофіти), габітус та тривалість життя [Серебряков, 1962], класифікація рослин по їх відношенню до освітлення [Didukh, Ya.P., 2011], розподіл рослин по відношенню до ґрунтового зволоження [Didukh, Ya.P., 2011], кліматоморфа [Раункієр, 1934]

Апофітна фракція представлена: евапофіти – 110 видів, геміапофіти – 120 видів, апофіти не стійкі (37 видів) представлені антрофобним елементом антропогенних місцезростань.

У складі апофітної фракції флори Ужгорода представлені такі життєві форми: дерева – 3 види, кущі – 3 види, напівкущі – 1 вид, трав'янисті полікарпики – 173 види, монокарпики – 86 видів.

За відношенням до світла в апофітній фракції досліджуваної флори переважають гефітофіти – 136 видів, сциогеліофіти – 111 видів, сціофіти – 7 видів, геліосциофіти – 13 видів.

За відношенням до вологості ґрунту в апофітній фракції флори незначно переважають мезофіти – 110 видів, ксеромезофітів – 94 види, мезоксерофітів – 17 видів, гігромезофітів – 9 видів, гідрофітів – 14 видів, ксерофітів – 11 видів, гідрофітів – 8 видів, мезогідрофітів – 4 види.

За кліматоморфою в апофітній флорі переважають гемікриптофіти – 153 види, криптофітів, терофітів – 81 вид, криптофітів, геофітів, – 22 вида, криптофітів, гідрофітів – 4 види, фанерофітів – 5 видів, хаметофітів – 2 види.

Шопська І. Ю., Прокопів А. І.

**СТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ І ПРОРОСТАННЯ НАСІНИН
LEONTOPODIUM ALPINUM CASS.**

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: shopskaira@ukr.net

Shopska I. Y., Prokopiv A. I. STRUCTURAL FEATURES AND GERMINATION OF SEEDS OF *LEONTOPODIUM ALPINUM* CASS. The optimal conditions for germination and cultivation of *L. alpinum* are soil pH 5.5–6.5, high insolation, the temperature 22 °C respectively and increased humidity. The morphometric parameters of seedlings correlate with changes in the conditions of germination. It was examined the character of leaf pubescence of plants at different age stages, the structure of epidermis and species-specific anatomical and morphological features of vegetative organs.

Leontopodium alpinum Cass. (білотка альпійська) – трав'яна багаторічна, ентомофільна та анемохорна рослина, гемікриптофіт. Життєва форма – короткокореневищний полікарпик неявнополіцентричного типу біоморфи. За типом ареалу *L. alpinum* є південно-середньоевропейським високогірним диз'юнктивним видом. В Україні трапляється в Карпатах: в субальпійському й альпійському поясах на абсолютній висоті 1400–1900 м н. р. м. На сьогоднішній день в Українських Карпатах в природних умовах відомо лише 6 популяції виду. Рослина стенотопна – приурочена до вапнякових відслонень. Вид належить до високо декоративних видів, є символом гір. На всій площі ареалу *L. alpinum* охороняється, занесений також до «Червоної книги України» (2009).

З метою збереження та охорони цього рідкісного виду доцільним було дослідити структурні особливості особин *L. alpinum* за умов інтродукції в культивованих умовах. Зокрема, з'ясувати закономірності анатомо-морфологічної будови, що можуть мати адаптивне значення та зумовлювати обмежене поширення виду в природних локалітетах, та виявити особливості проростання насінин та розвитку особин в умовах культури.

Провели оцінку схожості насінин *L. alpinum* за різних умов освітлення і температури. Визначили, що оптимальні умови для проростання насінин та культивування проростків *L. alpinum*, – це рН ґрунту 5,5–6,5, висока інсоляція, температура + 22 °С та підвищена вологість. Отримані морфометричні показники особин проростків, корелюють із змінами умов пророщування, зокрема у лабораторних умовах розміри проростка становили 5 см, у контрольованих ґрунтових умовах – 2,5–3 см.

Виявили особливості характеру опушення листків особин різного віку та структуру епідерми листка *L. alpinum*, а також властиві для виду анатомо-морфологічні особливості вегетативних органів. А саме: дорсовентральний тип будови листової пластинки з одношаровою верхньою і нижньою епідермою; три анатомо-топографічні зони стебла: епідерму, первинну кору та центральний циліндр. При дослідженні кореневої системи генеративних особин *L. alpinum* виявили, що вона представлена алоризною кореневою системою, з добре вираженим головним коренем. Дослідили наявність павутинчасто-повстистого опушення на поверхні листків, сформованого великою кількістю скручених і переплутаних унісеріатних волокнистих трихом. Вважаємо що ці трихоми дозволяють протистояти інтенсивному сонячному випромінюванню, зокрема ультрафіолетовому, в розрідженій атмосфері високогір'я.

Відмінності анатомо-морфологічних ознак різновікових особин пов'язані передусім з характером опушення частин пагона і забарвленням стебла. Виявлено, що генеративним особинам *L. alpinum* властива значно більша кількість трихом на поверхні листка, ніж ювенільним чи проросткам.

Результати досліджень свідчать про можливість успішної інтродукції *L. alpinum* із насінин за умов культивування в контрольованих умовах, з подальшою репатріацією в природні локалітети.

ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ GENETICS AND BIOTECHNOLOGY

Боднар І., Типусяк І., Гринчук О., Боднар Л.

ВИЯВЛЕННЯ ХРОМОСОМНИХ МУТАЦІЙ ЗА ДІЇ СИНТЕТИЧНОГО ХАРЧОВОГО АРОМАТИЗАТОРА «КАРАМЕЛЬ»

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул.Грушевського, 4 м. Львів, 79005, Україна
e-mail: bodnarlidia@ukr.net

Bodnar I., Typusyak I., Hrynychuk O., Bodnar L. DETECTION OF CHROMOSOMAL MUTATIONS WITH THE INFLUENCE OF THE SYNTHETIC FOOD FLAVORING «CARAMEL». We have detected the induction of dominant lethal mutations on *Drosophila melanogaster* by food flavoring «Caramel» only in dose, increased in 10 times of the recommended; and induction of chromosomal aberrations in root meristem cells of onion *Allium cepa* L. with the influence of all doses.

Висновок про генотоксичну безпеку харчових добавок в Україні не є обов'язковим. Хоча, саме біотестування синтетичних складових продуктів харчування для визначення їх генотоксичних властивостей на різних тест-об'єктах набуває все більшого значення, адже дозволяє з'ясувати мутагенну чи/або цитотоксичну, чи/або канцерогенну дію досліджуваних зразків. Доказовим показником мутаційного процесу на клітинному рівні є виявлення хромосомних мутацій, підвищений рівень яких розглядається як хромосомна нестабільність, яка в подальшому може спричинити розвиток злоякісних новоутворень. Вітаміни, зокрема А та С, є незамінними факторами живлення, які забезпечують нормальний розвиток організму, служать необхідним захистом для тварин і людини та можуть бути використані для зняття або зменшення сумарних мутагенних фонів. Цей підхід був нами використаний для виявлення можливих змін щодо мутагенної активності синтетичного харчового ароматизатора «Карамель» при одночасній дії ароматизатора та вітамінних хіміопреверентів.

Серед складових харчового ароматизатора «Карамель» є азотовмісні гетероцикли, особливу небезпеку серед яких становить 4-метилімідазол. Це гетероциклічна органічна сполука, яка є похідним імідазолу, в якому атом водню в 4 положенні заміщений на метильну групу. При ана-телофазному аналізі на *Allium cepa* L. як при 1% концентрації, так і при 10% концентрації ароматизатора рівень хромосомних аберацій перевищував значення контролю. Серед аномалій найчастіше зустрічалися одинарні та парні дицентрики, які можуть виникати в результаті транслокацій. При вивченні зразків 10% концентрації показники хромосомних мутацій були вищими і становили $4,2 \pm 1,98$. Окрім дицентриків та непарних та парних фрагментів за дії цих зразків нами було зафіксовано чотири мікроядра, які утворилися з ацентричних фрагментів. У всіх проведених дослідках цитотоксичної дії зразків ароматизатора «Карамель» нами не виявлено.

Частоту домінантних летальних мутацій вивчали на *D.melanogaster*; шляхом внесення зразків ароматизатора «Карамель» в середовище та згодовуючи личинок. Частоту домінантних летальних мутацій вираховували з врахуванням появи незапліднених яєць, яєць з ранніми та пізніми мутаціями, які значно відрізнялися за кольором. Найвищий рівень відсотків незапліднених яєць виявлено при дослідженні зразка «Карамель» з концентрацією в 10 разів вищою від добової – відсоток незапліднених яєць перевищував контрольні показники в 3 рази. У 2 рази зафіксоване підвищення відсотків яєць з ранніми домінантними летальними в порівнянні з контролем як при вивченні добової дози, так і при збільшеній дозі в 10 разів. Проте, найвищі показники смертності яєць виявлено з пізніми домінантними летальними - в порівнянні з контролем індукування збільшене у 5-6 разів. За сумісної дії

ароматизатора «Карамель» з вітамінами А і С спостерігалось часткове зниження відсотків індукування домінантних летальних мутацій, проте не до рівня контролю.

Братусь Н., Горбулінська С.

РОЗВ’ЯЗУВАННЯ ГЕНЕТИЧНИХ ЗАДАЧ ОДИН ІЗ ЗАСОБІВ ФОРМУВАННЯ ПРАКТИЧНОЇ СПРЯМОВАНOSTІ НАВЧАННЯ

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: bratysnadiya@ukr.net*

Bratus N., Horbulinska S. SOLVING GENETIC PROBLEMS AS A TOOL OF PRACTICAL ORIENTATION OF EDUCATION. The biological exercise - the kind of creative tasks aimed at enhancing mental activity of students, understanding the laws of heredity and variation, the ability to apply this knowledge in practice. The combination theoretical knowledge, with the ability to apply them in practice by solving computational exercise and situation problems, can provide general students preparation and preparation for future careers.

Зміст сучасної української біологічної освіти перебуває на етапі оновлення та потребує обґрунтування певних основ ефективного формування знань у старшій школі із використанням сучасних інноваційних технологій навчання, орієнтованих на особистість учня й інших дій та методів, які слугують засобами активізації пізнавальної діяльності. Генетика належить до лідерів сучасного природознавства за темпами нагромадження наукової інформації, важливістю та глибиною наукових відкриттів і за тим впливом, який має ця наука на життя людства. Особливістю генетики є те, що її не можна глибоко засвоїти без розв’язування задач. Задачі активізують розумову діяльність учнів; стимулюють самоосвіту, мотивують пізнання нового на уроці і в позаурочний час; готують юні особистості до сприйняття нестандартних ситуацій і пошуку їх вирішення.

Закономірності в генетиці мають статистичний характер, тому застосування основних понять теорії ймовірності просто необхідно для поглибленого вивчення питання. В результаті вивчення закономірностей спадковості учні мають достатньо вільно орієнтуватися в тому як відбувається схрещування, які результати при схрещуванні визначених особин найбільш ймовірні, як можна правильно підбираючи батьківські особини, з впевненістю очікувати бажаний результат. Ці практичні задачі мають ймовірнісний характер, і тому при їх вирішенні не можливо обійтись без допомоги теорії ймовірності. А не застосовувати елементи теорії ймовірності при вирішенні таких генетичних задач – означає скорочувати їх зміст.

На меті комбінаторного аналізу стоїть дослідження комбінаторних конфігурацій, алгоритмів їх побудови, оптимізація таких алгоритмів, а також розв’язання задач. Найпростішими прикладами комбінаторних конфігурацій є перестановка, розміщення, комбінація та розбиття. Під час розв’язування деяких практичних задач з генетики доводиться обирати з певної сукупності об’єктів елементи, що мають ті чи інші властивості, розміщуючи ці елементи в певному порядку. Оскільки в цих задачах йдеться про ті чи інші комбінації об’єктів ці задачі називаються комбінаторними. Використання методів комбінаторики у розв’язанні генетичних задач дозволять уникнути, в деяких випадках громіздких таблиць, створити можливість розширити кількість задач по темі.

Під час розв’язування генетичних задач, також, можна використати метод дидактичної гри. Це доречно для уроку закріплення вмінь і навичок, для повторення раніше набутих уявлень, для розвитку основних прийомів мислення, розширення кругозору. Досягти основної мети дидактичної гри можливо за умови формування в учнів умінь поєднувати теоретичні знання з практичною діяльністю.

Таким чином, генетичні задачі допомагають краще зрозуміти закономірності спадковості та мінливості, застосовувати отримані знання на практиці. Поєднання вивченого теоретичного матеріалу, запам'ятовування фактичних даних і теорій формують уміння застосовувати їх на практиці шляхом розв'язування розрахункових і ситуаційних задач - є поштовхом до пошуку інноваційних методів розв'язування генетичних завдань. Оскільки завданням профільного навчання є забезпечити загальноосвітню підготовку учнів та підготовку до майбутньої професійної діяльності.

Власюк Л., Ющук О., Горбаль Л., Федоренко В.

ГЕТЕРОЛОГІЧНА ЕКСПРЕСІЯ ГЕНА *rrf_{AT}* В КЛІТИНАХ СТРЕПТОМІЦЕТІВ

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

e-mail:arnikamontana2015@gmail.com

Vlasiuk L., Yushchuk O., Horbal L., Fedorenko V. *rrf_{AT}* HETEROLOGOUS EXPRESSION IN STREPTOMYCETES. In current work we have created a collection of *Streptomyces* strains with overexpression of *rrf_{AT}* gene from *A. teichomyceticus*. Generally, we have assumed that overexpression of this gene can have positive impact on antibiotic production in these strains. Particularly, we have studied influence of the overexpression on the biosynthesis of moenomycin in *S. ghanaensis*, siomycin in *Streptomyces sioyaensis*, actinorhodin in *Streptomyces coelicolor* and unknown compound in *Streptomyces peruviansis*. Unfortunately, heterologous overexpression had no significant impact on the biosynthesis of the mentioned compounds. We speculate that the absence of positive effect could be a result of non-optimal expression platform chosen.

Ген *rrf* бактерій кодує фактор дисоціації рибосом, який сприяє від'єднанню рибосом від трансляційного посттермінаційного комплексу. Його функціонування важливе для швидкого залучення рибосом у наступні акти трансляції. З літературних джерел відомо, що надекспресія гена *rrf* в клітинах деяких штамів *Streptomyces* зумовлює підвищення синтезу антибіотиків та покращення параметрів росту культури [Ma Z. та ін., 2014, Li L. та ін., 2010]. Наші попередні дані свідчать, що підвищення рівня синтезу тейкопланіну в *Actinoplanes teichomyceticus* можна також досягнути за допомогою надекспресії гена-ортолога фактора дисоціації рибосом *rrf_{AT}*. Це спонукало нас здійснити гетерологічну надекспресію гена *rrf_{AT}* у таких штамів стрептоміцетів: *Streptomyces ghanaensis* (продукує моеноміцин), *Streptomyces sioyaensis* (продукує сіоміцин), *Streptomyces coelicolor* (продукує актинородин) та *Streptomyces peruviansis* (продукує невідомий антибіотик).

Для проведення надекспресії гена *rrf_{AT}* ми використали раніше сконструйовану інтегративну плазмиду pSETpAmrrf. У ній ген *rrf_{AT}* перебуває під контролем промотора гена стійкості до апраміцину *aac(3)IVp*. Ми перенесли цю плазмиду у всі згадані штами стрептоміцетів за допомогою міжродової кон'югації з *E.coli* ET12567 pUZ8002. У результаті отримано колекцію штамів стрептоміцетів з надекспресією гена *rrf_{AT}*. Далі ми дослідили рівень антибіотичної активності кожного з них щодо тест-культури *Bacillus cereus*. Жоден з отриманих нами штамів-транскон'югантів не виявляв підвищеної антибіотичної активності порівняно з вихідними безплазмідними штамми. Відсутність впливу надекспресії гетерологічного гена *rrf_{AT}* на антибіотичну активність досліджених штамів стрептоміцетів може бути спричинена тим, що його клоновано з *A. teichomyceticus* - представника віддаленої від стрептоміцетів родини актинобактерій, а саме *Micromonosporaceae*. Ймовірно також, що промотор *aac(3)IVp* не забезпечує ефективної експресії *rrf_{AT}* у клітинах стрептоміцетів. Надалі ми вивчатимемо вплив гена *rrf_{AT}* на антибіотичну активність стрептоміцетів, здійснюючи його експресію під контролем інших промоторів.

Гора Н., Майстренко О., Серга С., Проценко О., Козерецька І.

**ЗВ'ЯЗОК МІЖ ІНФІКОВАНІСТЮ *WOLBACHIA* ТА МУТАЦІЙНИМ РІВНЕМ
ПРЕДСТАВНИКІВ ПРИРОДНИХ ПОПУЛЯЦІЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER***

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

ІНЦ "Інститут біології та медицини"

вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01601, Україна

e-mail: nazaragora@gmail.com

Gora N., Maistrenko O., Serga S., Protsenko O., Kozeretska I. THE RELATIONSHIP BETWEEN *Wolbachia* INFECTION AND THE FLY MUTATION FREQUENCY IN NATURAL POPULATIONS OF *Drosophila melanogaster*. Little is known about the influence of *Wolbachia* in *Drosophila melanogaster* in the natural conditions. We analyzed the relationship between the infection level of *Wolbachia* and the mutation frequency in natural populations of *D. melanogaster*. There is not significant correlation between *Wolbachia* infection rate and the mutation frequency (Spearman rank correlation: $r_s = -0.21$, $n = 6$, $p = 0.66$).

Альфапротеобактерія *Wolbachia* є одним з найпоширеніших ендосимбіонтів безхребетних, інфікуючи близько 50 % артропод [Weinert et al. 2015]. Бактерія успадковується майже виключно по материнській лінії (трансоваріально) за рахунок інфікування клітин зародкового шляху. З інфікуванням бактерією пов'язують явище репродуктивного паразитизму, яке і забезпечує таку поширеність *Wolbachia* у природі. *Wolbachia* поширена у всіх досліджених природних популяціях *D. melanogaster*, де вона спричиняє низькі рівні цитоплазматичної несумісності [Serga et al. 2013]. Тому повинні існувати і інші механізми, які забезпечують успіх поширення *Wolbachia* серед представників *D. melanogaster*.

Метою нашої роботи був пошук можливого зв'язку між інфікуванням *Wolbachia* та частотою мутаційних подій у представників природних популяцій *D. melanogaster*. Проаналізовано 734 ізосамкові лінії покоління F2 природних популяцій дрозофіли з 6 локалітетів на території України, які характеризувались різним рівнем радіаційного забруднення або його відсутністю, наявністю мутацій та присутністю інфекції *Wolbachia*. Ізосамкові лінії започатковані з природного матеріалу, зібраного в літньо-осінній період 2013 та 2014 років. Мутації ідентифікувалися фенотипово (порушення розвитку C2, L2, L5 жилок крила, коричневі та яскраво-червоні очі та фенотипові зміни (деформації крил, різноманітні варіації жилкування крила, білий абдомен, balloon та ін.). Ідентифікацію інфекції проводили за допомогою ПЛР з використання специфічних праймерів до фрагменту гена *wsp*, який кодує поверхневий білок *Wolbachia*. Частота мутацій в популяції визначалась відношенням кількості ізосамкових ліній з мутаціями до загальної кількості проаналізованих ліній. Рівень інфікованості визначався співвідношенням інфікованих до загальної кількості ізосамкових ліній окремої популяції. Кореляція між частотою мутацій та рівнем інфікованості *Wolbachia* встановлювалась за допомогою програмного забезпечення R [R Core Team, 2016].

Результати показали відсутність зв'язку між рівнем інфікованості та мутаційною частотою (коефіцієнт кореляції рангів Спірмена: $r_s = -0.21$, $n = 6$, $p = 0.66$), частотою кожної фенотипової девіації ($r_s = -0.296$, $p = 0.82$ – C2; $r_s = 0.41$, $p = 0.14$ – L2; $r_s = -0.379$, $p = 0.18$ – L5; $r_s = 0.009$, $p = 0.97$ – коричневі очі; $r_s = -0.296$, $p = 0.066$ – яскраво-червоні очі), частотою фенотипових змін ($r_s = -0.336$, $p = 0.24$).

Грицина І.¹, Ключівська О.², Кобилінська Л.³, Стойка Р.^{1,2}, Лесик Р.³

**АНТИНЕОПЛАСТИЧНА ДІЯ ПОХІДНОГО 4-ТІАЗОЛІДИНОНІВ Les-3288
НА КЛІТИНИ ЛІНІЇ U251 ГЛІОМИ ЛЮДИНИ**

¹Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна

²Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, Львів, 79005, Україна

³Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна

e-mail: irchuk_@mail.ru

Grytsyna I., Klyuchivska O., Kobylinska L., Stoika R., Lesyk R. ANTINEOPLASTIC ACTION OF 4-THIAZOLIDINONE DERIVATIVE Les-3288 TOWARD HUMAN U251 GLIOMA CELLS. Our study has shown that the compound 3288 possess antineoplastic activity toward human U251 glioma cells. This activity is stronger than activity of doxorubicin (positive control). An action of this compound causes proapoptotic morphological changes such as fragmentation of nuclei, chromatin condensation and damage of cells membrane.

Незважаючи на значні досягнення сучасної медицини та біології у лікування раку, досконалі протипухлинні препарати до цього часу не розроблені. Тому, пошук нових речовин, які володіють антинеопластичною активністю є актуальним завданням.

Метою роботи було дослідити антинеопластичну дію речовини Les-3288 (сполука, похідна 4-тіазолідинонів) на клітини лінії U251 гліоми людини.

Матеріали та методи. Сполука Les-3288 була синтезована у ЛНМУ імені Данила Галицького. Як позитивний контроль було використано доксорубіцин та темозоломід. Життєздатність клітин лінії U251 гліоми людини за дії речовини 3288 досліджували за допомогою МТТ тесту та підрахунку клітин з трипановим синім, морфологічні зміни клітин – за допомогою флуоресцентної мікроскопії, цитофлуориметричний аналіз був використаний при дослідженні змін клітинного циклу.

Результати. Встановлено, що речовина Les-3288 чинить сильнішу цитотоксичну дію на гліомні клітини ніж доксорубіцин. Дослідження клітинного циклу показало, що сполука 3288 дозозалежно збільшує кількість проапоптичних клітин у пре G-1 фазі. Виявлені морфологічні зміни у структурі ядра, такі як конденсація хроматину та фрагментація ядра.

Висновки. Показано, що сполука Les-3288 чинить антинеопластичну дію стосовно клітин лінії U251 гліоми людини. Її вплив є більш токсичним ніж вплив доксорубіцину у концентрації 1 мкг/мл. Інкубація гліомних клітин з досліджуваною речовиною викликає проапоптичні морфологічні зміни.

Гриців С., Колб Ю., Серивко Б., Конечна Р., Петріна Р.

**ОДЕРЖАННЯ БІОМАСИ РІДКІСНИХ ВИДІВ РОСЛИН РОДИН RANUNCULACEAE
ЗА ДОПОМОГОЮ БІОТЕХНОЛОГІЧНОГО МЕТОДУ**

Національний університет «Львівська політехніка»

вул. С. Бандери, 12, м. Львів, 79013, Україна

e-mail: gryciv.sofa@gmail.com

Hrytsiv S., Kolb Y., Seryvko B., Konechna R., Petrina R. OBTAINING BIOMASS OF RARE PLANTS OF FAMILY RANUNCULACEAE USING BIOTECHNOLOGICAL METHODS. Plants families RANUNCULACEAE *Delphinium elatum* and *Pulsatilla alba* are rare endangered species that contain alkaloids, glycosides, saponins, tannins and other biologically active substances. Therefore, the use of biotechnological methods of obtaining callus biomass is important and promising. Conditions were selected and obtained callus biomasses *Delphinium elatum* and *Pulsatilla alba* in *in vitro* conditions on a modified Murasyhe-Skuha breeding ground.

У родину *Ranunculaceae* входить багато різноманітних за зовнішнім виглядом та будовою рослин, поширених переважно в країнах з помірним і холодним кліматом. Зустрічаються вони і на високогірних пасовищах. Ця родина включає в себе як отруйні рослини, так і лікарські і декоративні. Деякі види занесені в Червону книгу. До рідкісних рослин родини *Ranunculaceae* належать такі рослини: *Delphinium elatum*, *Delphinium pallasii*, *Pulsatilla alba*, *Adonis vernalis*, *Aconitum soongaricum*. У пагонах, квітках, коренях, бульбах цих рослин виявлено алкалоїди, глікозиди, сапоніни, дубильні речовини, ефірні і жирні олії, органічні кислоти, антибіотики, фітонциди, вітаміни, флавоноїди, кумарини, гідроксикоричні кислоти, амінокислоти та інші БАП.

Delphinium elatum – багаторічна трав'яниста рослина родини *Ranunculaceae* [Червона книга України, 2009]. *Delphinium elatum* містить дитерпенові алкалоїди: елатин, дельсемін, делартин, кондельфін, які володіють високою фармакологічною активністю та проявляють курареподібну дію, третинні аміни, аконітову кислоту, камферол, макро- і мікроелементи. В якості лікарської рослинної сировини використовують насіння і траву, яку збирають під час цвітіння [Нестерук Ю., 2003]. *Pulsatilla alba* – багаторічна рослина, знаходиться під загрозою зникнення. Містить глікозид ранункулін, три терпенові сапоніни, дубильні речовини, анемонін та анемонол, вітамін С, а також близько 20-ти різних мікро- та мікроелементів. Як лікарську сировину використовують листя та корінь рослини [Стойко С.М., 1981].

Метою нашої роботи є використання біотехнологічного методу для одержання калусної біомаси *Delphinium elatum* та *Pulsatilla alba*.

Одержання калусної біомаси в культурі *in vitro* має ряд переваг, а саме одержання біомаси незалежно від клімату та пори року, оптимізація і стандартизація умов вирощування та отримання чистого, позбавленого мікроорганізмів біологічний матеріал [Бутенко Р., 1991].

Використано насіння *Delphinium elatum*, заготовлене у Ботанічному саду ЛНУ імені Івана Франка та насіння *Pulsatilla alba*. Спочатку проведено стерилізацію та стратифікацію насіння. Стратифікацію насіння проведено у холодній стерильній воді протягом однієї доби та методом механічної обробки. Стерилізацію насіння проведено 70%-им етанолом (3 хв.), 30%-им перекисом водню (10 хв.) і трьохразово промити дистильованою стерильною водою.

Насіння рослин внесено в культуру *in vitro* на середовище Мурасиге-Скуга та одержано стерильні рослини висотою 1-2 см через 4 тижні. Одержані рослини пересаджено на агаризоване модифіковане середовище Мурасиге-Скуга з додаванням регуляторів росту. Використано бензиламіноурин (БАП) (0,5;1,0;3,0 мг/л), 2,4-дихлорофеноксіоцтову кислоту (2,4-Д) (1 мг/л), індолілоцтову кислоту (ІОК) (2,0;3,0 мг/л), α -нафтил-1-оцтову кислоту (НОК) (0,1;0,5;1,0 мг/л) та кінетин (0,5 мг/л).

Отже, використавши біотехнологічний метод культури клітин та тканин, одержано через 35 діб калусну пористу біомасу жовтого кольору, рихлої консистенції, відносно твердо, з бугристою поверхнею. Шматочки розміром 0,5-1,5 см невизначеної форми було висушено і використано для подальших досліджень.

Громяк Н., Остап Б., Федоренко В.

ВТОРИНИЙ МЕТАБОЛІЗМ ШТАМІВ STREPTOMYCES ALBUS J1074, ЩО МІСТЯТЬ МНОЖИННІ СПОНТАННІ МУТАЦІЇ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: natali_hromiak@mail.ua

Hromiak N., Ostash B., Fedorenko V., THE SECONDARY METABOLISM OF THE STREPTOMYCES ALBUS J1074 STAIN CONTAINING NUMEROUS SPONTANEOUS MUTATIONS OF ANTIBIOTIC RESISTANCE. Our research group focused on the impact of

the spontaneous mutations on the antibiotic synthesis, in particular of the mutation *rpsL* - the merodiploidy state of the gene and the *rsmG* mutation.

Нині існує проблема зростання кількості збудників інфекційних захворювань стійких до більшості протимікробних препаратів. Тому потрібно шукати нові антибіотики, які матимуть інший механізм дії, або модифікувати та покращити властивості вже відомих. Таким антибіотиком є моеноміцин (МмА), який продукується актиноміцетами. У молярному розрахунку МмА у 100 – 1000 разів перевищує інші антибіотики за активністю проти Грам-позитивних патогенів. Не описано патогенні мікроорганізми, що набули резистентності до нього. Моеноміцини – єдина група природних сполук, що пригнічує пептидогліканові глікозилтрансферази (ПГТ). Це робить МмА єдиною доступною моделлю для розробки нового класу антибіотиків на основі інгібування ПГТ.

Природні штами-продуценти фосфогліколіпідів накопичують надзвичайно малі кількості антибіотика, що ускладнює його практичне використання та дослідження з метою отримання клінічно цінних похідних. Тому важливим завданням є отримання штамів з підвищеним рівнем накопичення моеноміцинів. Одним із способів отримання таких штамів полягає в маніпуляціях компонентами трансляційного апарату актинобактерій, зокрема рибосоною.

Важливим компонентом трансляційної системи є, зокрема, субодинаця 30S рибосоми, до складу якої входить білок S12, який кодується геном *rpsL*. Описано випадки підвищення синтезу або активації мовчазних генних кластерів у відповідь на мутації у генах рибосомних білків та РНК. Зокрема, відомо, що низка точкових мутацій гена *rpsL* (кодує рибосомний білок S12) надає стійкості до стрептоміцину та посилює синтез вторинних метаболітів у актинобактерій. Нами було досліджені такі мутації, а зокрема R86P, K88R, K88E, L90K, P91S, GI92, K88E+P91S, K88E+GI92, R94G J1074. І встановлено, що меродиплоїдний стан за геном *rpsL* не викликає суттєвого зростання рівня антибіотичної активності вищезгаданих штамів *S. albus*.

Нами було досліджено мутантні штами лінії R94G (KO-1295 (*rpsL*, *rsmG*), KO-1304 (*rpsL*, *rsmG*, *lin*), KO-1305 (*rpsL*, *rsmG*, *lin*, *ery*), які містять додаткові мутації, а саме: *rsmG* – (rRNA small subunit methyltransferase G), який кодує S-аденозинметіонін (SAM)-залежну 16S рРНК метилтрансферазу. SAM відіграє важливу роль в ініціюванні продукції антибіотика у бактерій та є внутрішньоклітинною сигнальною молекулою, яка бере участь у вторинному метаболізмі. Введення мутації *rsmG* може активувати мовчазні гени, *lin*, *ery* – не визначено. А також нами були досліджені мутантні штами лінії RG_ex (KO-1301 (*rpsL-rpsL*+, *rsmG*), KO-1306 (*rpsL-rpsL*+, *rsmG*, *lin*), KO-1307 (*rpsL-rpsL*+, *rsmG*, *lin*, *ery*), які є меродиплоїдами за геном *rpsL*. Дослідження цих мутантних штамів показало, що дані мутації не суттєво впливають на синтез антибіотика.

Жукровська К.-О., Ющук О., Горбаль Л., Федоренко В.

СТВОРЕННЯ ВЕКТОРІВ ДЛЯ КОЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ, ЩО ПОЗИТИВНО
ВПЛИВАЮТЬ НА БІОСИНТЕЗ ТЕЙКОПЛАНІНУ В
ACTINOPLANES TEICHOMYCETICUS ATCC31121

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: ksiuha97@gmail.com

Zhukrovska K.-O., Yushchuk O., Horbal L., Fedorenko V. CONSTRUCTION OF VECTORS FOR COEXPRESSION OF GENES THAT POSITIVELY INFLUENCE TEICOPLANIN PRODUCITON IN *ACTINOPLANES TEICHOMYCETICUS ATCC31121*. In this work we describe construction of a set of plasmids which are going to be used for the coexpression of genes that positively influence teicoplanin production.

Actinoplanes teichomyceticus – представник родини *Micromonosporaceae*, що описаний як продуцент глікопептидного антибіотика тейкопланіну. Це антибіотик «вибору» для лікування системних інфекцій, спричинених мультирезистентними грам-позитивними патогенами. За фармакокінетикою тейкопланін вигідно відрізняється від інших глікопептидів, маючи низьку нефротоксичність та високу тканинну проникність. Штам дикого типу *A. teichomyceticus* ATCC 31121 продукує малу кількість тейкопланіну – біля 100 мг/л. Це спонукає до пошуку методів, які б збільшили продуктивність *A. teichomyceticus*. Нещодавно описано штам-надпродуцент тейкопланіну *A. teichomyceticus* *tei15*⁺, створений за допомогою надекспресії гена позитивного регулятора біосинтезу тейкопланіну *tei15*^{*} (Horbal L. 2013, 2014).

Результати наших попередніх експериментів свідчать про позитивний вплив на продукцію тейкопланіну надекспресій низки інших генів. Це, зокрема, гетерологічний ген *dahp* із *Amycolatopsis balhimycina*, що кодує перший фермент шикіматного шляху біосинтезу тирозину – попередника у формуванні аглікону глікопептидів; ген *frf* *A. teichomyceticus*, що кодує білок, задіяний у вивільненні рибосоми з пост-термінаційного комплексу (Lili L. 2010, 2014), а також ген *adpA*_{SC80} з *A. teichomyceticus*, який є найближчим гомологом *adpA* – глобального регулятора вторинного метаболізму і морфогенезу стрептоміцетів. Ми припускаємо, що ко-надекспресія цих генів і *tei15*^{*} може мати кумулятивний ефект та привести до подальшого зростання рівня синтезу тейкопланіну.

Оскільки у штамі *A. teichomyceticus* *tei15*⁺ ген *tei15*^{*} було надекспресовано у складі інтегративної плазмиди pSETPAm (похідної pSET152), яка має *attP*-ділянку бактеріофага фC31, ми обрали для створення бажаних векторів іншу плазмиду – pMS82, що містить *attP*-ділянку бактеріофага фBT1. Для субклонування зазначених вище генів із плазмід-похідних pSET у pMS82 застосовано таку стратегію. Плазмиду pMS82 розщепили ендонуклеазою EcoRV. Для того, щоб отримати фрагменти, які містять бажані гени під контролем промотора гена стійкості до апраміцину, вектори pSETpAmSc80 та pSETpAmdahp розщеплено за допомогою PvuII. Створену касету та лінеаризовану плазмиду лігували з утворенням pMS82pAmSc80 та pMS82pAmdahp відповідно. У випадку pSETpAmrf використано ендонуклеази EcoRV та XbaI (остання залишає «липкі кінці», які ліквідували, використавши Blunting enzyme від ThermoFisher). Касету лігують з pMS82/EcoRV з утворенням pMS82pAmrf.

Отже, нами було сконструйовано три вектори на основі інтегративної плазмиди pMS82: pMS82Amdahp, pMS82Amrf та pMS82adpA, які несуть гени – потенційні активатори біосинтезу тейкопланіну. У дальшій роботі ми плануємо перенести їх в штам *A. teichomyceticus* *tei15*⁺ та визначити вплив коекспресії генів *tei15*^{*}, *frf*, *dahp* та *adpA*_{SC80} на рівень біосинтезу тейкопланіну в рекомбінантних штаммах

Кваско А., Ємець А.

ОПТИМІЗАЦІЯ СКЛАДУ ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНДУКЦІЇ
КАЛЮСОГЕНЕЗУ ЗРІЛИХ ЗАРОДКІВ ПШЕНИЦІ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»
вул. Осиповського 2а, м. Київ, 04123, Україна
e-mail: kvasko.anna77777@gmail.com

Kvasko A., Yemets A. OPTIMIZATION OF MEDIUM COMPOSITION FOR *IN VITRO* CALLUS INDUCTION FROM WHEAT (*Triticum aestivum* L.) Seeds of two cultivars (Vyhovanka – winter type wheat and Alegia – spring type wheat) *Triticum aestivum* L. were surface-sterilized with 70% ethanol (2 min), 0,002% AgNO₃ (20 min) and 2% NaOCl (10 min) and washed sterile water. Mature embryos and aseptically leaf explants were inoculated on MS medium supplemented with B5 vitamins and different concentration of phytohormones.

Ефективність індукції калюсу та рослинної регенерації у культурах тканин пшениці залежать від типу експлантів, генотипів та середовища [Ozgen, 1998]. Для отримання соматичної калюсної культури пшениці використовують декілька типів експлантів, зокрема, зрілі та незрілі зародки, мезокотилі, апікальні меристеми, молоді листки [Abumhadi, 2005].

Для дослідження використано насіння озимого сорту «Вихованка» та ярого сорту «Елегія»: Стерилізацію зрілих зародків пшениці проводили за такою схемою: обробка 70%-вим розчином етанолу протягом 2 хв., потім 0,02%-вим розчином азотнокислого срібла з експозицією у 20 хв. та подальша обробка 10 хв. 2%-вим розчином гіпохлориту натрію. Простерилізоване насіння тричі промивали дистильованою водою.

Стерильне насіння обох сортів переносили на середовище Мурасиге та Скуга (МС) без регуляторів росту для отримання асептичних тридобових проростків. Сегменти молодих листків переносили на середовище МС з вітамінами за Гамборгом та 3 варіантами концентрацій регуляторів росту: 1) 0.5 мг/л нафтилоцтової кислоти (НОК), 1 мг/л 2,4-дихлорфенолоксіоцтової кислоти (2,4 Д); 2) НОК -1 мг/л, 2,4 Д - 2 мг/л; 3) НОК -2 мг/л, 2,4 Д - 3 мг/л. Індукцію калюсогенезу спостерігали на 5-6 добу для всіх 3 варіантів середовищ. Найбільшу частоту калюсоутворення зафіксовано для середовища №1 для обох сортів.

Для отримання калюсної тканини використовували два типи експлантів: зрілі зародки та сегменти молодих листків. Експланти зі зрілих зародків асептично видаляли з частиною ендосперму та переносили на середовище МС з вітамінами за Гамборгом та 3 варіантами концентрацій регуляторів росту: 1) 6-бензиламінопурин (БАП)-0.5 мг/л, 2,4 Д-1 мг/л; 2) БАП-1 мг/л, 2,4 Д-2 мг/л; 3) БАП-2 мг/л, 2,4 Д- 3 мг/л. Індукцію калюсу спостерігали на 3 добу після перенесення на середовище №2 та на добу для середовищ №1 та 3.

Було встановлено, що найменший відсоток зараження зафіксовано для даного способу стерилізації у листових сегментів у якості експлантів, а найбільший процент калюсогенезу спостерігався у щитків зрілих зародків.

Ковальчик М., Горбулінська С.

ПРИНЦИП НАУКОВОСТІ У ФОРУВАННІ ЗМІСТУ БІОЛОГІЧНОЇ ОСВІТИ

*Львівський національний університет імені Івана Франка
Вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: bratysnadiya@ukr.net*

Kowalczyk M., Horbulinska S. THE PRINCIPLE OF SCIENCE IN SHAPING THE CONTENT OF BIOLOGICAL EDUCATION. How scientific is a leading benchmark in bringing educational content with a level of science and technology with the accumulated experience of world civilization. That is, it is understood as correspondence education level of modern science, students create faithful representations of common methods and laws of the process of scientific knowledge.

Принцип науковості був і залишається провідним регулятором у визначенні змісту та структури навчальних предметів, послідовності їх вивчення. Оновлення змісту навчання в зв'язку з переходом на нові освітні стандарти, висуває вимоги до принципів та побудови нової системи навчання, що забезпечить становлення особистості в ХХІ столітті.

Відповідно вимоги до змісту навчального матеріалу полягають у науковій достовірності поданих учням відомостей, поясненні сутності явищ, що вивчаються, демонстрації взаємозв'язків складових явища, його розвиток та стрибкоподібний характер розвитку. Тобто, учнів потрібно ознайомити з найважливішими теоріями, що пояснюють явища, створити відповідні уявлення про пізнання світу та розвиток людського розуму. Сформулювати уяву про абсолютну та відносну істину, а також ознайомити з методами наукового дослідження.

У свою чергу вчитель має побудувати засвоєння змісту навчання так, щоб не допустити непосильного навчання категорії учнів, проводити його так, щоб вони могли свідомо засвоювати загальнонаукові та професійні знання, практичні навички й уміння, повністю використовуючи свої інтелектуальні й фізичні можливості. В іншому разі дидактичний процес матиме тільки формальний характер, може призвести до втрати віри у свої здібності і, відповідно, формувати пасивне ставлення учнів до навчально-пізнавальної діяльності.

Розкриваючи суть власно біологічних знань, мається на увазі відображення у змісті якнайбільшого числа тих фундаментальних наукових досягнень, без яких не можливе функціонування сучасного фахівця, які не зміняться у ході розвитку науки. Тільки інструментальні і ретельно перевірені знання можуть створити матеріальні умови для розвитку виробництва, запобігти надмірному і нераціональному використанню природних багатств, екологічним і соціальним катастрофам. Тому цілком зрозуміло, що у зміст біологічної освіти мають бути включені відкриті у минулому наукові істини, тобто теоретична інформація у вигляді та аналізі наукових ідей, поглядів, концепцій, гіпотез.

Реалізація принципу науковості має забезпечити формування в учнів діалектико-матеріалістичного світогляду і творчого ставлення до явищ природи і суспільства, умінь у будь-якій справі прогнозувати, моделювати, планувати, аналізувати, систематизувати, будувати систему доказів, використовувати знання на практиці, що здійснюється у процесі реального пізнання і сприяє розвитку особистості.

**Ковальчук З.,^{1,2} Куліш О.,^{1,3} Смирнова В.,^{1,2} Симоненко Ю.,^{1,2}
Парій М. Ф.,^{1,3} Кучук М.²**

**СТВОРЕННЯ ЗАКРІПЛЮВАЧІВ СТЕРИЛЬНОСТІ РІПАКУ ОЗИМОГО OGURA-INRA
ТИПУ СТІЙКИХ ДО ГЕРБІЦИДІВ ІМІДАЗОЛІНОВОЇ ГРУПИ.**

¹ Всеукраїнський науковий інститут селекції
Україна, 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 30

² Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України
Україна, 03143, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 148

³ Національний університет біоресурсів і природокористування України
Україна, 03041, м. Київ, вул. Героїв оборони, 15
e-mail: Zoreslava09@gmail.com

Kovalchyc Z., Kulish O., Smirnova V., Symonenko Y., Pariy M., Kuchuk M.
CREATING FIXING STERILITY OGYRA-INRA TYPE RESISTANT TO HERBICIDES
IMIDAZOLINOVYH GROUPS. The investigation provided an opportunity to highlight sterile
line of winter rape, and determine line-recovery of fertility sterile forms the basis of herbicide
resistance imidazole group.

Ріпак є лише частково перехреснозапилююю культурою і може мати досить високий відсоток самозапилення, який залежно від природних умов варіює від 12 до 47%. Одним з ефективних механізмів запобігання самозапиленню є застосування цитоплазматичної чоловічої стерильності та само несумісності. При цьому використовується генетична система контрольованого розмноження (ГСКР), яка включає в себе селекційну роботу з отримання та розмноження форм з ознакою «цитоплазматична чоловіча стерильність» з використанням закріплювачів стерильності, створенням стерильного аналога закріплювача стерильності та аналога батьківської форми-відновлювача фертильності, розмноження батьківських компонентів.

Проведення селекційних робіт щодо отримання гібридів зумовлена тим, що гібриди краще, ніж сорти при вільному запиленні, пристосовані до індустріальних технологій вирощування, а ефект гетерозису сприяє дальшому підвищенню продуктивності культури.

Таким чином для отримання гібридів необхідне використання ГСКР та наявність генів стійкості до гербіцидів імідазолінової групи (Shiga T, 1980).

Для отримання гібридів озимого ріпаку із ознакою стійкості до гербіцидів імідазолінової групи використовували зразки ріпаку озимого з ознакою ЦЧС VNDASF-3, VNAS-5, VNLS-7, VNSKS-9, VNKS-10. Донором генів стійкості до імідазолінів слугував зразок ярого ріпаку ПР45Г72. Виділені зразки стерильних форми були використані у системі схрещувань з метою створення стерильних форм і закріплювачів стерильності з ознаками стійкості до гербіцидів імідазолінової групи.

В результаті схрещувань були отримані гібриди, які в своєму геномі містили гени закріплення стерильності і гени стійкості до імідазолінонів, які використовувались в подальших схрещуваннях.

Для отримання закріплювачів стерильності проводилось самозапилення отриманих в результаті схрещувань гібридів F_1 з яких були виділили фертильні форми.

Виділені форми, які виявились закріплювачами відповідного типу стерильності і несли в своєму геномі гени стійкості до гербіцидів імідазолінової групи включились в селекційну роботу по отриманню стерильних ліній на основі стійкості до імідазолінів.

Виконані дослідження надали можливість виділити стерильні лінії ріпаку озимого, та визначити лінії-відновлювачі фертильності стерильних форм з ознакою стійкості до гербіцидів імідазолінової групи.

Кужик Ю., Мутенко Г., Осташ Б.

УЧАСТЬ ГЕНА $AFSA_{gh}$ У РЕГУЛЯЦІЇ МОРФОГЕНЕЗУ ТА ВТОРИННОГО МЕТАБОЛІЗМУ У *STREPTOMYCES GHANAENSIS* ATCC14672

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: yura.kuzhyk@gmail.com

Kuzhyk Y., Mutenko H., Ostash B. PARTICIPATION OF GENE $AFSA_{gh}$ IN REGULATION OF MORPHOGENESIS AND SECONDARY METABOLISM IN *STREPTOMYCES GHANAENSIS* ATCC14672. We have studied the properties of gene $afsA_{gh}$, encoding putative butyrolactone synthase of *S. ghanaensis* ATCC14672. Knockout of $afsA_{gh}$ abolished the progression of ATCC14672 life cycle from substrate to aerial mycelium on certain media. This morphological arrest was caused by inability of the $afsA_{gh}$ mutant to produce diffusible signaling molecule, most likely of butyrolactone type. The knockout also led to moderate increase in moenomycin production.

Впровадження антибіотиків у медичну практику XX-го століття докорінно змінило медицину та сприяло підвищенню як середньої тривалості життя людини, так і якості лікування інфекційних захворювань. Однак в останні десятиліття відкриття нових антибіотиків значно сповільнилося, що пояснюється поступовим вичерпанням ефективності традиційних підходів до виявлення природних сполук, підходів та методів хімічної модифікації відомих сполук. Водночас, значно зріс відсоток інфекцій, викликаних мульти-резистентними формами патогенів. У результаті сформувалась гостра потреба у нових антибіотиках. Зокрема, спостерігається інтерес до повторного дослідження тих класів антибіотиків, які не було впроваджено у минулі десятиліття.

Одним із таких кандидатів є моеноміцини - сполуки фосфогліколіпідної природи. Моеноміцини продукуються низкою стрептоміцетів, з яких найкраще вивченим на сьогодні є *S. ghanaensis*. Природний рівень продукції моеноміцинів штамами дикого типу дуже низький, зумовлюючи інтерес в підходах до отримання надпродуцентів цих сполук. Один зі способів – це маніпулювання рівнем експресії генів плейотропної регуляції вторинного

метаболізму. Цей підхід має зміст у нашому випадку, оскільки вже показано, що біосинтез цих сполук контролюється низкою регуляторів такого типу, зокрема генами *arpA*, *adpA* та геном *bldA*

Враховуючи, що продукт гена *arpA* є білок-рецептор А-фактора (AgrA) ми припустили, що ген *afsA* відповідає за біосинтез низькомолекулярної сигнальної сполуки. Ця сполука належить до групи γ -бутиролактонів, і може впливати через певний регуляторний каскад на морфогенез та вторинний метаболізм, зокрема біосинтез групи моеноміцинових антибіотиків.

Нами сконструйовано штам *S. ghanaensis* Δ afsA-4 у якому ген *afsA* нокаутовано за допомогою заміщення на касету стійкості до гігromіцину. Отриманий штам втратив здатність формувати повітряний міцелій на середовищі TSA. Проте, при спільному вирощуванні на цьому середовищі мутанта з дикими типом, здатність до споруляції відновлюється. Схожу картину ми спостерігаємо при вирощуванні з іншими актиноміцетами, а також при нанесенні екстракту бутиролактонів з культуральної рідини, ще вирощувався дикий тип *S. ghanaensis*. Також варто зазначити, що отриманий штам синтезує сполуку моеноміцин на рівні не нижчому ніж той, що притаманний дикому типу.

Отже, отримані результати свідчать про участь гена *afsA* у позитивній регуляції морфогенезу *S. ghanaensis*, а також відсутність позитивної кореляції між здатністю накопичувати цим штамом бутиролактони і синтезувати антибіотики.

Куліш О.^{1,2}, Ковальчук З.^{1,3}, Симоненко Ю.^{1,3}, Парій М.^{1,2}

ХАРАКТЕРИСТИКА ЛІНІЙНОГО МАТЕРІАЛУ ЦУКРОВОЇ КУКУРУДЗИ НА ОСНОВІ ГЕНУ СТРУКТУРИ ЕНДОСПЕРМУ *SH₂*

¹ Всеукраїнський науковий інститут селекції
03022, м. Київ, вул. Васильківська, 30

² Національний університет біоресурсів і природокористування України
03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 15

³ Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України
03143 вул. Академіка Заболотного, 148, м. Київ
e-mail: olyakulich@ukr.net

Kulich O., Kovalchyc Z., Symonenko Y., Pariy M. CHARACTERISTICS OF LINEAR SWEET COTN ON THE CORE STRUCTURE OF THE ENDOSPERM GENE *SH₂*. Study of recombinant lines sweetcorn created and involved in the crossing of different subspecies, the allocation of these new sources of breeding and commercial signs. With a working collection, we have selected 10 lines containing the mutant gene *sh₂*, and best characterized by economic indicators. For the main economic performance in the complex been better line №778 and №826. The next stage of our work will be of mating and evaluation of these lines in matching ability.

В селекції цукрової кукурудзи використовують лінійний матеріал мутантного гена *su₁*, дія якого блокує конвертацію цукрів в крохмаль та різко збільшує вміст вільних цукрів і водорозчинних полісахаридів в зерні технічної стиглості. Поряд з цим відомі й інші крохмальомодельюючі гени ендосперму, які можуть бути використані в практичній селекції. Серед них – рецесивна мутація гена *sh₂*, яка викликає активізацію накопичення цукрози в структурному комплексі цукрів, повну відсутність синтезу декстринів та репресує синтез крохмалю. Сорти і гібриди, отримані з залученням даної мутації, називають «надцукровими». Завдяки високому вмісту цукрози, замість декстринів як у мутації *su₁*, вони мають поліпшені смакові якості зерна, крім того «надцукрова» кукурудза характеризується уповільненими темпами перетворення цукрів в крохмаль в період дозрівання і особливо в післязбиральний період, що дозволяє подовжувати використання товарної продукції на 8-10 діб (О.Є. Клімова, 2013) і вигідно відрізняє їх від звичайних цукрових генотипів на основі мутації *su₁*.

Тому метою нашої роботи було вивчення ліній цукрової кукурудзи, виділення серед них кращих, а також отримання нових джерел селекційно-цінних господарських ознак.

З робочої колекції нами було вибрано 10 ліній які містять мутантний ген sh_2 , і характеризувалися кращими господарськими показниками.

Оцінка десяти ліній «надцукрової» кукурудзи проводилась за комплексом морфо-біологічних ознак, а саме: вегетаційний період; кількість листків на рослині; наявність пасинків та прилистків; висота рослин; форма волоті; висота прикріплення качана; величина качана та його форма; діаметр качана; к-сть рядів зерен та к-сть зерен в одному ряді; величина насінин та їх колір; продуктивність одного качана.

Аналізуючи проведені дослідження можна виділити наступні лінії: за ознакою насінневої продуктивності качана кращими були: - № 826, 778, 770. За вегетаційним періодом всі лінії були розділені на такі групи: ранні (№770, 789, 794, 814, 826), середньоранні (№778, 810, 818) пізні (№759, 767). За ознакою кількість рядів зерен були відмічені лінії № 778 та №794, за кількістю насінин в ряді що становить більше 28 шт. характеризувалась лінія №826. За величиною качана нами були відмічені наступні лінії: 14,45 см. №767.

За основними господарськими характеристиками в комплексі кращими були лінії №778 та №826. Наступним етапом нашої роботи буде проведення схрещування та оцінка цих ліній на комбінаційну здатність.

Мандзюк О., Щербакова О.

ВПЛИВ КОМПОНЕНТІВ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА НА ЗМІНИ ФЕНОТИПУ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНИХ МУТАНТІВ DROSOPHILA MELANOGASTER

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

e-mail: oksana_kysla@yahoo.com

Mandzyuk O., Shcherbakova O. THE INFLUENCE OF FOOD COMPONENTS ON PHENOTYPE CHANGES OF NEURODEGENERATIVE MUTANTS OF DROSOPHILA MELANOGASTER. Adding yeast extract to a culture medium extended the lifespan and appearance of neurodegeneration in 3.5.8 mutants. Methionine was shown to be a major food component that effected the phenotype changes in 3.5.8 mutants, but not in *Oregon* or *loechrig* flies. On the medium with casein females of all lines had slightly increased lifespan compared to males.

Відомо, що обмежене харчування, або дієта, суттєво впливає на тривалість життя багатьох організмів, в тому числі і дрозофіли [Schriner, 2016; Arking, 2015]. Довгий час вважалося, що тривалість життя мух залежить від кількості спожитих вуглеводів, проте сучасні дослідження вказують на те, що основним фактором є співвідношення спожитих вуглеводів і білків.

В роботі були використані лінії нейродегенеративних мутантів 3.5.8 та *loechrig* (*loe*), контролем слугувала лінія дикого типу *Oregon*. Мутація 3.5.8 була попередньо отримана внаслідок хімічного мутагенезу при дії етилметансульфонату [Щербакова, 2009]. Особини цієї лінії характеризувалися зниженою тривалістю життя, поведінковими відхиленнями та появою дегенеративних змін у тканині мозку з 10 дня життя імаго. Мутація *loe* була отримана в лабораторії Д. Кречмар [Kretschmar, 2002] та люб'язно надана нам для досліджень. В особин лінії *loe* вакуолізація мозку виявлялася з 3-го дня життя дорослої мухи спочатку у центральній ділянці, а з віком поширювалась на всі частини мозку.

Додавання у поживне середовище дріжджового екстракту подовжувало максимальну тривалість життя особин лінії 3.5.8 до $49,2 \pm 1,43$ днів, порівняно з $42,3 \pm 2,1$ днями на стандартному середовищі, і відтерміновувало появу нейродегенеративних змін, які з'являлися після 15-го дня життя дорослої мухи. Не було виявлено впливу дріжджового

екстракту на зміни фенотипу в особин контрольної лінії чи лінії *loe*. При додаванні в поживне середовище різних компонентів дріжджового екстракту, зокрема вітамінів, біотину, сахарози, деяких амінокислот, в мутантів 3.5.8 показано позитивний вплив на фенотип лише метіоніну. На середовищі з казеїном показано, що самки всіх досліджуваних ліній виявляли збільшену тривалість життя порівняно з самцями.

Манько Н.^{1,2}, Луцик М.², Федоренко В.¹

**ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИБАКТЕРІЙНОЇ ДІЇ ХІТИНУ ТА ХІТОЗАНУ
ІЗ ПІДМОРУ БДЖІЛ (*APIS MELIFERA*)**

¹Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна

²Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, Львів, Україна

e-mail: mankonazar@ex.ua

Manko N., Lutsyk M., Fedorenko V. STUDY OF ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF CHITIN AND CHITOSAN FROM HONEYBEE (*Apis mellifera*) CORPSES. Chitin/chitosan are natural polysaccharides possessing antibacterial properties. This aspect have been studied for chitin/chitosan isolated from marine organisms. Preparations of chitin/chitosan from honeybees and their antibacterial properties are studied fragmentary and not completely enough. We isolated chitin/chitosan from honeybee corpses in our laboratory and studied their antibacterial effect. It was revealed that chitosan-melanin complex and chitosan from crabs exhibit antibacterial properties. Chitin and pure chitosan from honeybee were practically inactive. It was concluded that presence of melanin in chitosan, has an important significance for antibacterial activity of honeybee chitosan.

Одиним із важливих аспектів біомедичного застосування хітину та хітозану є їх застосування в якості протибактерійних засобів. Антибактерійні властивості достатньо добре вивчені для хітозану і його похідних, отриманих із морських організмів [А. Muzzarelli, 1977, В.Е. Тихонов 2013]. В той же час подібні властивості хітину і хітозану бджолиного підмору досліджено фрагментарно і несистематично.

Метою проведеної роботи було дослідження антибактеріальних властивостей хітину і хітозану отриманого в лабораторії із підмору бджіл.

Антибактерійну активність хітину і хітозану вивчали на грампозитивних бактеріях *Staphylococcus aureus* за допомогою розробленого мікрометоду який полягав в наступному. В центрифужну пробірку вносили 0,5-2,0 мг порошку зразка хітину/хітозану, додавали 200 мкл середовища Сабуро (рН 7.4) до суміші вносили 15 мкл бактерійної суспензії. Суміш інкубували 24 години при 37°C. Контролем служили дві проби, з яких одну інкубували при 37°C (ріст бактерій), а друга містила 0,05% азиду натрію (повне пригнічення росту бактерій). Після інкубації до проб додавали 1 мл фосфатного буферу (рН 7.4), злегка перемішували і після осідання частинок хітину/хітозану визначали каламутність супернатанту за світлопоглинанням при 600 нм на спектрофотометрі СФ-42 (ЛОМО). Інгібування росту виражали в процентах відносно контрольної проби з негальмованим ростом бактерій.

Встановлено що препарати хітину бджолиного підмору не пригнічували росту бактерій при концентрації 10 mg/ml. Аналогічний результат було отримано з хітозаном після повної очистки від меланіну. Хітозан, який містив меланін (хітозан-меланіновий комплекс), повністю пригнічував ріст бактерій при концентрації 2,5 mg/ml. При дослідженнях на агарі з нанесеними частинками досліджуваних препаратів хітину/хітозану виявлено повне пригнічення росту бактерій препаратами хітозан-меланінового комплексу.

Таким чином встановлено, що виражену протибактерійну активність проявляє хітозан-меланіновий комплекс підмору бджіл, який в перспективі може бути застосований в якості засобу для попередження інфікування раневих поверхонь і їх лікування. Для цього необхідно більш детально вивчити спектр антибактерійної дії хітозан-меланінового комплексу.

Маяковська А., Волинець Г.

МОДЕЛЮВАННЯ СТРУКТУРИ $\beta 2$ -АДРЕНОРЕЦЕПТОРА (ADRB2), ЩО КОДУЄТЬСЯ ПОЛІМОРФНИМИ ВАРІАНТАМИ 46A>G, 79C>G ТА 491C>T ГЕНА ADRB2

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України

вул. Академіка Заболотного, 150, м. Київ, Україна

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології» проспект

Академіка Глушкова 2, м. Київ, Україна

e-mail: anastasiia.maiakovska@gmail.com

Maiakovska A., Volynets G. INFLUENCE OF POLYMORPHISMS 46A>G, 79C>G AND 491C>T ADRB2 GENE SEQUENCE ON THE RECEPTOR STRUCTURE. The widespread single-nucleotide polymorphisms 46A>G, 79C>G and 491C>T of ADRB2 gene are associated with many different genetic diseases. These SNPs are involved in pathogenesis and treatment responses in asthma, coronary artery disease and Parkinson's disease. Three-dimensional structures of mutated ADRB2 were generated using web-servers SWISS-MODEL and I-TASSER. Accordingly to the modeling data, p.16Arg>Gly and p.27Gln>Glu polymorphisms modify the spatial structure of the extracellular domain of the receptor, p.164Thr>Ile has influence on the conformation of transmembrane α -helix. The investigated polymorphisms are located near binding site of the $\beta 2$ -agonists.

Метою дослідження було комп'ютерне моделювання просторової структури мутантних варіантів $\beta 2$ -адренорецептора, що кодуються rs1042713, rs1042714 та rs1800888 і спричинюють несинонімічні заміни 46A>G (p.16Arg>Gly), 79C>G (p.27Gln>Glu) та 491C>T (p.164Thr>Ile), асоційовані з індивідуальною відповіддю пацієнтів на застосування $\beta 2$ -агоністів. Існують експериментальні дані про взаємозв'язок поліморфізмів 46A>G, 79C>G та 491C>T гена ADRB2 з розвитком низки патологій, такими як бронхіальна астма, ожиріння, атеросклероз, цукровий діабет 2 типу, ішемічна хвороба серця.

Комп'ютерне моделювання просторової структури протеїнів за гомологією проводили за допомогою web-ресурсу Swiss Model server (<http://swissmodel.expasy.org/>). Моделі за гомологією просторової структури мутантного (p.164Thr>Ile) та дикого типу білка ADRB2 людини були отримані з використанням у якості «матриці» кристалічної структури ADRB2 людини (PDB ID: 2R4R). Варіанти моделей тривимірної структури отримували також за допомогою web-ресурсу I-TASSER (<http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/>). Було спрогнозовано найбільш імовірні моделі аналізованих амінокислотних послідовностей із найвищими значеннями C-score.

Досліджувані амінокислотні заміни локалізовані на N-кінці білка ADRB2, де відбувається зв'язування рецептора із лігандами, в тому числі, і з $\beta 2$ -агоністами. При поліморфізмі p.16Arg>Gly відбувається заміна позитивно зарядженого амінокислотного залишку аргініну в 16 положенні на гліцин. При поліморфізмі p.27Gln>Glu відбувається заміна гідрофільного незарядженого амінокислотного залишку глутаміну в 27 положенні на негативно заряджений амінокислотний залишок глутамінову кислоту. Подальші дослідження спорідненості мутантних рецепторів до $\beta 2$ -агоністів буде проведено з використанням метода молекулярного докінгу. Амінокислотна заміна p.164Thr>Ile знаходиться у четвертій трансмембранній альфа-спіралі білка ADRB2, де також розміщений сайт зв'язування з $\beta 2$ -

агоністами. Заміна гідрофільного амінокислотного залишку треоніну в 164 положенні на гідрофобний залишок ізолейцин призводить до зміни просторової структури білка ADRB2. Були отримані моделі білків дикого типу та з амінокислотою заміною р.164Thr>Ile за гомологією. За результатами порівняльного аналізу просторових структур, отриманих в результаті такого моделювання встановлено, що при р.164Thr>Ile, молекула білка стає більш компактною, сусідні альфа спіралі наближуються одна до одної, оскільки оточуючі амінокислотні залишки переважно є гідрофобними. За результатами моделювання відбуваються зміни просторової структури білка ADRB2, що може впливати на спорідненість рецептора до β 2-агоністів, і таким чином, зумовлювати погану відповідь на терапію у пацієнтів з різними генотипами за геном ADRB2.

Олійник С., Копій О., Голуб Н.

**ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ ТА РУХОВА АКТИВНІСТЬ МУТАНТІВ
ЗА ГЕНОМ ДИСТРОФІНУ *DROSOPHILA MELANOGASTER***

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005 Україна
e-mail: natalieholub@i.ua

Olijnyk S., Kopij O., Holub N. VIABILITY AND LOCOMOTOR ACTIVITY OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* DYSTROPHY MUTANTS. Dystrophin is a central protein of DGC and its absence in humans leads to Duchenne muscular dystrophy. *Drosophila* is used as a model object for studying this disease. In our experiments we used *DysDf/Tm6,Tb* strain of *Drosophila melanogaster* containing mutation in the dystrophin gene and wild type strain *Oregon R* as a control. We tested the behavioral responses of larvae (72–78 hours) and adults: indexes of life expectancy, physical activity, and total egg production. It was shown that dystrophy mutants are characterized by reduced these indicators.

Дистрофін є одним з центральних білків дистрофін-глікопротеїнового комплексу (ДГК), який зв'язує актиновий цитоскелет клітини з зовнішньоклітинним матриксом. Його повна або часткова відсутність в організмі людини спричиняє найбільш важку форму м'язових дистрофій – м'язову дистрофію Дюшенна. Оскільки у дрозофіли наявні всі компоненти ДГК, що і у людини, але з меншою кількістю ізоформ, тому вона може використовуватися як хороший модельний об'єкт для вивчення цього захворювання.

Метою нашої роботи було перевірити поведінкові реакції у личинок та імаго мутантів за геном дистрофіну *Drosophila melanogaster*.

У даній роботі ми використовували мутантних особин *DysDf/TM6Tb* з втраченою функцією гена дистрофіну. Контролем служила лінія дикого типу *Oregon R*. У досліджах визначали показники тривалості життя, рухову активність, а також загальну яйцекладку. У тестах використовували імаго–самців в загальній кількості не менше 200 особин та личинок третього віку (72–78 год.). У кожному досліді було проаналізовано 200–300 личинок. Для визначення загальної яйцекладки індивідуально схрещували 10 самок і 10 самців.

Для визначення тривалості життя будували криві виживання. При побудові кривих виживання особлива увага приділяється плато на кривій, наявність якого вважається характерною ознакою нормального старіння, а закінчення плато і перегин кривих виживання свідчать про нормальне старіння особин. У особин лінії *Oregon* було наявне плато, а перегин кривої виживання спостерігався після 17-го дня життя. У мутантів плато не спостерігалось, а імаго починали відмирати після 4-го дня життя. Показники тривалості життя були нижчими від контрольних на 48 – 70%. Рухова активність знижувалася з віком як у особин лінії *Oregon*, так і у імаго лінії *DysDf/TM6Tb*. Індекси рухової активності вимірювалися на 1–3-й, 4–6-й, 7–9-й, 10–12-й дні. У мутантних особин ці показники були в серед-

ньому втричі нижчими, ніж у контролі. Показник загальної яйцекладки, а також кількість личинок у лінії *Oregon* були достовірно вищими порівняно з дистрофіновими мутантами. Так, у лінії дикого типу 10 самками було відкладено 6119 яєць, з яких вилупилося 4023 личинки. Самками дистрофінових мутантів було відкладено 4471 яйце, з яких отримано 1498 личинок.

У личинок дистрофінових мутантів показник рухової активності в середньому становив 2,68 см за 1 хв. У личинок лінії *Oregon R* цей показник був статистично вищим і становив 3,78 см за 1 хв. Це може свідчити про те, що у дистрофінових мутантів ознаки пошкодження м'язів проявляються вже у личинковому віці. У личинок лінії *DysDf/TM6,Tb* середній показник інтенсивності скорочення стінок тіла становив 20,38 разів за 1 хв. У личинок лінії *Oregon* він був статистично нижчим, і дорівнював 15,36 разів за 1 хв.

Отже, мутанти за геном дистрофіну характеризуються зниженими показниками тривалості життя, загальної яйцекладки та кількості личинок порівняно з імаго контролю. Показники рухової активності у мутантів *DysDf/TM6,Tb* також були нижчими, ніж у лінії *Oregon R*, як у личинок, так і дорослих особин.

Петровська Я., Лизак О., Дмитрук К., Сибірний А.

**ІДЕНТИФІКАЦІЯ МІШЕНЕЙ ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ФАКТОРА SEF1P
ФЛАВІНОГЕННИХ ДРІЖДЖІВ *CANDIDA FAMATA***

*Інститут біології клітини НАН України
вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: yanapetrovska1@gmail.com*

Petrovska Y., Lyzak O., Dmytruk K., Sybirnyi A. IDENTIFICATION OF TARGETS OF Sef1p TRANSCRIPTION FACTOR IN THE FLAVINOGENIC YEAST *CANDIDA FAMATA*. Riboflavin biosynthesis pathway is well studied in yeast *C. famata*, however, its regulation is poorly understood. Only one regulatory *SEF1* gene have been identified so far. Using yeast one-hybrid system it was demonstrated, that Sef1p directly interacts with promoters of *RIB* genes as well as with its own promoter providing evidence of autoregulation.

Рибофлавін (РФ) або вітамін B₂ – це важлива сполука для всіх живих організмів. Рибофлавін слугує попередником флавінових коферментів ФМН (флавінмононуклеотид) та ФАД (флавінаденіндинуклеотид), задіяних в численних біохімічних процесах. Одним із зручних об'єктів для вивчення регуляції біосинтезу РФ та конструювання надсинтетиків вітаміну B₂ є флавіногенні дріжджі *Candida famata*. На сьогодні ідентифіковано лише один ген — *SEF1*, що залучений у позитивній регуляції біосинтезу флавінів.

Метою цієї роботи було дослідження механізму взаємодії білка Sef1p з структурними генами біосинтезу рибофлавіну. Для цього було використано одноклітинну систему на базі дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Штам BY4742 було ко-трансформовано плазмідами, одна з яких містить *SEF1* ген під контролем промотора гена *GALI*, що індукується галактозою, а інша містить ген *LAC4 Kluyveromyces lactis*, що кодує β-галактозидазу, під контролем промоторів генів *RIB1*, *RIB2*, *RIB3*, *RIB5*, *RIB6*, *RIB7* та *SEF1*. У випадку зв'язування Sef1p з відповідним промотором очікувалось зростання активності β-галактозидази. Для встановлення сайту зв'язування білка Sef1p було модифіковано *RIB1* промотор шляхом видалення нуклеотидної послідовності потенційного сайту зв'язування або шляхом її модифікації. В результаті було встановлено, що Sef1p безпосередньо взаємодіє з промоторами більшості *RIB* генів, та з власним промотором, виявляючи авторегуляцію.

Рокицький І., Кошла О.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ВЖИВАННЯ КОДОНІВ В ГЕНОМАХ *STREPTOMYCES*

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: igorritto@gmail.com

Rokytkyy I., Koshla O. RESEARCH METHODS FOR CODON USAGE IN GENOMES OF *STREPTOMYCES*. There is a lot of incomprehensibility in rules of codon usage. Our work describes a couple of visualizing methods of codon substitutions *in silico* and *in vivo*, to help identify patterns of codon usage and replacements. In particular, it will allow a better understanding of the role of rare codons in the synthesis of antibiotics and improved optimization techniques for heterologous gene expression.

Актинобактерії роду *Streptomyces* одні із найважливіших джерел біологічно активних сполук – антибіотиків, імуносупресантів, протиракових препаратів тощо. Також, ці бактерії характеризуються особливим кодонним складом; високий ГЦ склад геномів зумовлює частіше вживання ГЦ-багатих синонімічних кодонів і рідше – АТ-багатих. Це у першу чергу стосується лейцинового кодона ТТА, що має екстремально низьку частоту вживання.

Для кращого розуміння особливостей вживання кодонів в геномах *Streptomyces* потрібно опрацювати низку методів візуалізації кодонних заміщень *in silico* та *in vivo*, що допоможуть виявити закономірності вживання та заміщення кодонів. Зокрема, це дозволить краще зрозуміти роль рідкісних кодонів у синтезі антибіотиків та удосконалити методи оптимізації кодувальних послідовностей генів для гетерологічної експресії. Одним з методів візуалізації є побудова кодонних матриць (61х61). Це таблиці кіл різного діаметру, що відповідає частоті заміщення одних кодонів на інші, та різного забарвлення, що відповідає характеру заміщення: синонімічні, несинонімічні, тощо. Модель дає змогу виділити патерни вживання кодонів і продовжити дослідження кодонів, що виділяються на загальному фоні. Також, можна судити про тип і спрямованість селективних сил.

Нами також опрацьовано експериментальну модель для *in vivo* вивчення впливу різних факторів (середовища, мутацій) на трансляцію певних кодонів. Зокрема, створено кодон(ТТА)-специфічну кумат-індуцибельну репортерну систему на основі гена бета-галактозидази *SCO3479* для вивчення експресії рідкісного кодона ТТА в *Streptomyces albus*. Активність бета-галактозидази візуально виявляється в утворенні кольорової сполуки при розщепленні X-gal в середовищі, що дозволяє спостерігати безпосереднє функціонування системи. Система складається з трьох плазмід: дві містять у 29й позиції гена *SCO3479* кодони-синоніми СТС або ТТА, а третя - стоп-кодон ТГА. Плазмиди перенесено в *S. albus*, що в нормі не здатний гідролізувати X-gal. Очікувано, експресія ТТА+ та СТС+ плазмід у цьому штамі веде до утворення синіх колоній стрептоміцета на чашках з X-gal та індуктором - куматом. Показано заблоковану трансляцію ТТА+ плазмиди у штамі з делецією гена тРНК, що декодує цей кодон. Отже, ми отримали і виконали початку верифікацію системи, в якій за утворенням забарвлених сполук можна прямо судити про трансляцію кодона ТТА. Аналогічні репортерні системи можна конструювати для вивчення особливостей трансляції будь-яких кодонів.

Трояновська Л., Дехтяренко Н.

ПОШУК АЛЬТЕРНАТИВНИХ ПРОДУЦЕНТІВ ПЕКТИНЛАЗИ

НТУУ «КПІ ІМ. І. СІКОРСЬКОГО»

вул. академіка Янгеля, 3, м. Київ, 03056 Україна
ndekhtiarenko@gmail.com
allamarana@mail.ru

Troianovska L., Dechtyarenko N. SEARCHING OF ALTERNATIVE PRODUCERS OF PECTYN LYASE. Pectyn lyase relates to the pectolytic enzyme complex. This enzyme is important participant of vine, juice preparation process and also can be used in light industry and

another fields. This work is dedicated to finding alternate producers of this enzyme in order to extend the ways of getting the enzyme, including industrial technologies.

Пектинліаза відноситься до комплексу пектолiтичних ферментiв. Цi ферменти широко поширенi в харчовiй та iнших галузях промисловостi. На сьогоднішнiй день пектинліаза є недостатньо вивченою, а для її промислового отримання в основному використовуються гриби роду *Aspergillus*, через що пошук нових продуцентiв ферменту є дуже актуальним питанням.

У промисловому препаратi Vinoxym як продуцент використовується *Aspergillus aculeatus*. Активнiсть ферментного комплексу препарату сягає 2800 Од/мг [Vinoxym Process. Technical data.].

Внаслідок літературного пошуку нами було виділено кілька можливих продуцентiв. Активнiсть їх ферментiв, звiсно, нижча, ніж у промислових штамiв, проте є достатньо високою, щоб завдяки, наприклад, методам генної iнженерії, досягти вищих значень. Так, були проведенi дослідження, що показали наявнiсть пектолiтичних ферментiв, зокрема пектинліази у *Erwinia aroideae*. Активнiсть пектолiтичного ферментного комплексу цього мікроорганізму сягає 1400 Од/мл культуральної рiдини [Shuwsei K., 1972].

Знайдено згадки про продукування пектинтранселіміназ грибом *Alternaria mali*. Активнiсть ферментного препарату може сягати 577 Од/мг [Hasui Y., 1976].

Пектинліази, виділенi з ґрунтового мікроорганізму *Pseudomonas marginalis* сягають максимальної активностi лише до 190 Од/мг [Sone H., 1988], однак на фонi загальної здатностi представникiв роду *Pseudomonas* продукувати iнші сполуки, є можливiсть налагодження практично безвідходного виробництва.

При дослідженні пектинліаз, отриманих від гриба *Aspergillus giganteus* було виявлено унікальну пектинліазу, що володіла достатньо великою активнiстю (від 785 Од/мг) та мала унікальну здатнiсть виробляти розчинний моногалактуронат прямо під час деградації пектину [Pedrolli D. B., 2014].

Пектинліаза, отримана від огіркового шкiдника *Pythium splendens* проявляла активнiсть до 534,6 Од/мг [Chen Wei-Chen, 1998].

При дослідженні пектинліаз, що продукуються психрофiльними дріжджами *Cystofilobasidium capitatum* РРУ-1 було виявлено не лише значну активнiсть ферменту: близько 1230 Од/мг, а й специфічну властивiсть ферменту, що полягала у його здатностi виконувати свої функції за низьких температур [Nagaoka T. T., 2005].

Достатньо висока активнiсть (899 Од/мг) була знайдена у гриба *Fusarium oxysporum lycopersici* [Guevara M.A., 1996].

Таким чином, окрім видiв, що використовуються для промислового отримання пектинліази, iснує достатньо широкий вибiр грибiв та мікроорганізмiв, які могли б стати потенційними продуцентами. Окрім того, їх пектинліази часто володіють незвичайними властивостями (наприклад, здатнiстю діяти в холодних умовах), що робить дослідження в напрямку пошуку нових продуцентiв ще більш перспективними.

Харківська Є.¹, Міщук Я.¹, Серга С.¹, Стаховський Є.², Вітрик Ю.²,

Кононенко О.², Демидов С.¹, Козерецька І.¹

**ПОЛІМОРФІЗМ 399 КОДОНА ГЕНА XRCCI (RS25487) ТА ЙОГО АСОЦІАЦІЯ
З РАКОМ СЕЧОВОГО МІХУРА СЕРЕД НАСЕЛЕННЯ УКРАЇНИ**

¹ Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини»

проспект Академіка Глушкова 2, м. Київ, 03022, Україна

e-mail: chudacka97@gmail.com

² Національний інститут раку

вул. Ломоносова, 33/43, м. Київ, 03022, Україна

**Harkivska Ye., Mishchuk Ya., Serga S., Stakhovsky E., Vytruk Yu., Kononenko O.,
Demydov S., Kozeretska I. ASSOCIATION OF XRCCI CODON 399 POLYMORPHISM**

(RS25487) WITH BLADDER CANCER SUSCEPTIBILITY IN THE UKRAINIAN POPULATION. Genetic variations in this gene include Arg399Gln polymorphism may alter repair function and contribute to bladder cancer risk. The aim of our study was to estimate the frequency of *XRCCI* codon 399 polymorphic variants in bladder cancer patients and in a control group and define association of this polymorphism with a bladder cancer in Ukrainian patients. We determined the allele frequencies for 111 patients and 92 controls. Genotyping was performed by PCR-RELP method as described by Arizono et al., 2008. According to our results *XRCCI* codon 399 polymorphism may not contribute to bladder cancer susceptibility in the Ukrainian population.

Рак сечового міхура (PCM) є одним з найбільш поширених проблем зі здоров'ям у всьому світі. Він займає сьоме місце серед злоякісних пухлин у чоловіків і сімнадцяте місце у жінок.

Генетична схильність до розвитку раку може бути зумовлена однонуклеотидними поліморфізмами генів, які беруть участь у функціонуванні різних сигнальних шляхів, в тому числі репарації ДНК, метаболічних шляхів і контролі клітинного циклу. X-ray repair cross-complementing groups 1 (*XRCCI*) відіграє важливу роль в експізітній репарації основ (BER) та репарації одноланцюгових розривів. Варіації цього гена, зокрема поліморфізм Arg399Gln в 10 екзоні (rs25487), можуть впливати на функціонування систем репарації та зумовлювати модифікацію ризику розвитку PCM. В Україні немає даних щодо частоти поліморфізму і його зв'язку з PCM. Тому метою нашого дослідження було оцінити частоту поліморфних варіантів 399 кодона гена *XRCCI* у групі пацієнтів з раком сечового міхура та в контрольній групі, а також визначити можливість асоціації даного поліморфізму з ризиком розвитку раку сечового міхура.

Визначали частоти алелей для 111 хворих і 92 здорових людей. Генотипування проводили методом PCR-RELP, як описано в літературі [Arizono et al., 2008].

Розподіл генотипів в контрольній групі склав: Arg/Arg - 48% (n = 44), Arg/Gln - 41,3% (n = 38), Gln/Gln - 10,7% (n = 10), тоді як в групі пацієнтів з раком сечового міхура частота генотипів становила: Arg/Arg - 56,8% (n = 63), Arg/Gln - 27,9% (n = 31), Gln / Gln - 15,3% (n = 17). Розподіл генотипів в контрольній групі відповідає очікуваному рівноважним у відповідності до рівняння Харді-Вайнберга ($\chi^2 = 59,7$, $p < 0,0001$), на відміну від групи хворих PCM ($\chi^2 = 0,172$, $p = 0,678$). Згідно наших результатів, серед пацієнтів з PCM спостерігалась значно нижча частота Arg/Gln ($F = 4$, $p < 0,05$) у порівнянні з контрольною групою, але ця різниця не є достовірною.

Отже, асоціації між поліморфізмом Arg399Gln гена *XRCCI* та ризиком розвитку раку сечового міхура серед представників українського населення не встановлено (OR = 0,55, 95 % CI = 0,31 to 0,99, $p = 0,13$).

Цап М., Гудима О., Матійців Н.

ЧУТЛИВІСТЬ МУТАНТІВ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ЗА ГЕНОМ *SWISS CHEESE* ДО ОРГАНОФОСФАТІВ ТА МЕТАБОЛІЧНОГО СТРЕСУ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: masyatsap27@gmail.com

Tsap M., Gudyma O., Matiytsiv N. SENSITIVITY OF *DROSOPHILA MELANOGASTER SWISS CHEESE* MUTANTS TO ORGANOPHOSPHATES AND METABOLIC STRESS. It was found that *sws*¹ mutants are sensitive to organophosphate diazinon. This effect is associated with a specific influence of diazinon on enzymatic activity of SWS/NTE. It was established that metabolic stress caused by starvation is an important factor of strengthening the *sws* phenotype manifestation.

Сьогодні описано багато нейродегенеративних мутантів *D. melanogaster*, які характеризуються розвитком дегенеративних змін у мозку. Одним із них є мутант за геном *swiss cheese (sws)*. Відомі мутації в цьому гені зумовлюють апоптоз нейронів та гіперогортання їхньої соми гліальними клітинами. Ген *sws* є не лише гомологом, але й функціональним ортологом гена нейропатію індукуючої естерази (NTE) ссавців. NTE ссавців є молекулярною мішенню ортофосфатів, які викликають повільну нейропатію у хребетних (індуковану відтерміновану нейропатію), котра морфологічно характеризується дегенерацією довгих аксонів центральної та периферичної нервової системи і клінічно проявляється у паралічі нижніх кінцівок. Зв'язуючись з NTE, фосфоорганічні сполуки інгібують її ферментативну активність за рахунок фосфорилування активного сайту серину. Ортофосфати широко використовуються як пестициди у сільському господарстві та інсектициди нервово-паралітичної дії.

Метою нашої роботи було дослідити життєздатність нейродегенеративних мутантів *D. melanogaster sws¹* при впливі ортофосфатів та за умов метаболічного стресу. Як контроль використовували особин дикого типу *Oregon-R*. Дослідження чутливості мух до дії ортофосфатів полягало у згодовуванні їм 0,006 мг/мл та 0,06 мг/мл розчину діазинону протягом доби. Оцінку життєздатності особин дикого типу *Oregon-R* та лінії *sws¹* за умов метаболічного стресу здійснювали на основі 5-денного згодовування мухам 10% розчину сахарози та дистильованої води. Як контроль використовували поживне середовище з 10% розчину сахарози та 1% розчину дріжджового екстракту. Достовірність отриманих результатів перевіряли за допомогою Log-rank тесту.

Аналіз даних показав достовірне зниження життєздатності мутантів *sws¹* у порівнянні з особинами дикого типу *Oregon-R* при згодовуванні їм розчину діазинону у обох концентраціях. При згодовуванні 0,006 мг/мл діазинону на 15 день залишилось 37% особин дикого типу, а всі мухи *sws¹* померли на 9 день. За умов додавання розчину діазинону 0,06 мг/мл на 15 день залишилось 46% особин дикого типу, а мутанти *sws¹* померли на 14 день. Виявлено достовірну відмінність у виживанні між особинами ліній *Oregon-R* та *sws¹* за умов 5-денного згодовування 10% розчину сахарози та дистильованої води. Виживання мутантів *sws¹* на 10 % розчині сахарози у порівнянні з контролем є нижчим на 25 % і на 73 % при споживанні лише води.

Таким чином, встановлено, що мутанти *sws¹* мають значну чутливість до ортофосфату діазинону. Такий ефект пов'язаний із специфічним впливом діазинону на ензиматичну активність SWS/NTE. Встановлено, що метаболічний стрес, викликаний голодуванням, є важливим фактором посилення прояву *sws*-фенотипу.

Яблонська К.

ВПЛИВ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА АКТИВНІСТЬ ДРІЖДЖІВ (*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*)

Національний авіаційний університет
пр. Космонавта Комарова, 1, м. Київ, Україна, 03058
e-mail: Katya_0126@bigmir.net

Yablonska K. THE EFFECTS OF ELECTROMAGNETIC RADIATION ON THE ACTIVITY OF YEAST (*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*). The influence of electromagnetic radiation of high (57–65 GHz) and low (20 Hz–2000кГц) frequency for a yeast cell is investigated. Shows the optimal parameters for increasing the activity of *Saccharomyces cerevisiae*.

Відомим є факт, що дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* широко використовуються при виробництві спирту та ферментованих напоїв функціонального призначення. Пошук ефективних способів інтенсифікації процесів зброджування має науковий та практичний інтер-

ес. Відомо, що закономірності цих процесів безпосередньо пов'язані з життєдіяльністю виробничих мікроорганізмів, тому активація дріжджів сприятиме покращенню технологічних та економічних показників виробництва.

З метою активації дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* нами досліджено вплив іонізуючого випромінювання високої (57 – 65 ГГц) та низької (20 Гц – 2000кГц) частоти на дріжджову клітину. Було встановлено, що низькочастотне випромінювання не впливає на активність *Saccharomyces cerevisiae*, а високочастотне збільшує активність дріжджової клітини у 2,5 рази.

Досліджено вплив відстані дріжджових клітин від джерела опромінення на їх активацію. Відстані вимірювань 20,30,40,50,60,70,80,90 мм від джерела опромінювання. Проаналізувавши дані для низьких частот показано, що крива є стрибкоподібною, тому ці дані в подальших дослідках не враховуються.

Щодо високих частот, то крива кількості мертвих клітин плавно росте до значення 360 тис клітин на 1 мл, при цьому значення кількості живих клітин найменше і становить 200 тис клітин на 1 мл. Найкращою відстанню від джерела опромінення є відстань 70 мм.

Для активації дріжджів використовували розчин цукру з концентрацією 1,25%, 2,5%, 5%, 10%, 20%, а також : 1) 10% р-н фруктози; 2) 10% р-н лактози; 3) 10% р-ин ксилози; 4) 10% р-н мальтози; 5) 10% р-н глюкози.

Досліджено, що найкраще активує дріжджову клітину 10% р-ин мальтози, це видно і з показань загальної мутності р-ну на денситометрі, а також по кількості живих та мертвих клітин (живих клітин 480 тис на 1 мл, мертвих 40 тис на 1 мл, тоді як у контролі 240 та 160 відповідно). Хорошою активуючою дією володіє також і сахароза. Можна зробити висновок, що активність дріжджів у порівнянні із контролем зросла у 2,5 рази.

Отже, оптимальними параметрами для підвищення активності *Saccharomyces cerevisiae* є опромінювання високочастотним іонізуючим випромінюванням із частотою 57 – 65ГГц, на відстані 70 мм від джерела випромінювання тривалістю 7 хв з використанням 10% р-ну мальтози.

Яшук А., Меженська Л.

АНАЛІЗ СТАНУ ТЕНДЕНЦІЇ ВИНИКНЕННЯ СПАДКОВИХ ХВОРОБ СЕРЕД НЕМОВЛЯТ ЗА ПЕРІОД З 2010 ПО 2016 РОКИ У РІВНЕНСЬКІЙ ОБЛАСТІ

*Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна
e-mail: mela57@ukr.net*

Yashchuk A., Mezhenka L. THE TENDENCY ANALYSIS OF BABIES HEREDITARY DISEASES DURING 2010–2016 IN RIVNE REGION. Genetic diseases are biggest problem in both medical genetics and pediatrics. Many hereditary diseases are genetic disorders caused by the presence of a third copy of some chromosome and other abnormalities within an individual's genetic make-up. In Rivne Region during 2010–2016 there was about 10 % babies with gene defects. Most widespread diseases in region are polydactyly, syndactyly, ichthyosis, Down's syndrome, Patau syndrome, Edwards syndrome, and Turner syndrome.

За даними світової статистики близько 5 % всіх новонароджених мають ті чи інші генетичні дефекти. За даними ВОЗ частота вроджених вад розвитку і спадкових захворювань плоду в різних країнах світу коливається в межах 22,7–50,0 %, а 40,0 % ранньої смертності та інвалідності з дитинства зумовлено спадковими чинниками [Вахарловский, Романенко, Горбунова, 2009; Natoli, Ackerman, McDermott, Edwards, 2012; Kent, Vorperian, 2013]. В Україні частота вроджених вад розвитку і спадкових захворювань сягає 26 на 1000 новонароджених [Сміян, Банадига, Багірян, 2002]. Випадки генетичних захворювань, що

призводять до високої пренатальної та ранньої неонатальної смертності у разі аномалій становлять інтерес для дослідження.

Аналіз даних, отриманих у Рівненському пренатальному центрі свідчить, що в середньому показник народжуваності в Рівненській області коливається в межах 8000 дітей. З 2010 до 2013 року кількість дітей, народжених з вадами зростала з 10,0 % до 11,2 %, а з 2013 до 2016 року спостерігається зменшення з 11,2 % до 8,6 %.

Серед генних хвороб в Рівненській області найчастіше трапляються полідактилія, синдактилія, вроджений іхтіоз. У 2010 році зареєстровано 12 випадків полідактилії, в 2011 – 17, в 2012 – 19, 2013–2016 роках – по 22 випадки. Даний показник має тенденцію зростання.

Хворих на синдактилію найбільше зафіксовано в 2011 році – 6 чоловік, по інших роках коливається в межах 1–3 випадки на рік.

Новонароджених з вродженим іхтіоз у 2011 році було 6 випадків, по інших роках дослідження – у межах 2–3 випадків.

Серед хромосомних порушень розвитку у Рівненській області відмічено синдроми: Дауна (трисомія, в основному, 21-ї пари хромосом), Патау (трисомія 13-ї хромосоми), Едвардса (трисомія 18-ї хромосоми), Шерешевського-Тернера (моносомія статевих хромосом). Кількість хворих на синдром Дауна коливалася в межах 20–34. Народження дітей з синдромом Патау зареєстровано лише у 2013 році, з синдромом Едвардса – тільки у 2011 році. У 2013 році взято на облік дві дитини з синдромом Шерешевського-Тернера.

Незважаючи на впровадження державних програм у сфері охорони здоров'я, останніми десятиліттями в країні спостерігається суттєве порушення здоров'я та відтворення населення, що веде до скорочення його чисельності. Дана проблема потребує постійного вивчення та узагальнення, бо питання спадкової патології з проблеми чисто медичної переростає в проблему соціальну. Варто проводити медико-генетичне консультування, селективну діагностику в групах підвищеного ризику та покращувати результати лікування дітей з хромосомними абераціями.

Koshla O., Borys O., Ostash B.

HETEROLOGOUS ARANCIAMYCIN PRODUCTION BY *RPSL*
MERODIPLOIDS OF *STREPTOMYCES ALBUS* J1074

Ivan Franko National University of Lviv
Hrushevskoho 4, Lviv, 79005, Ukraine
e-mail: kcena3@gmail.com

Nowadays we are facing the problem of multidrug resistance among pathogen microorganisms. There is urgent need in new classes of antimicrobials. For many years genus *Streptomyces* was prolific source for a wide range of secondary metabolites (SM). Indeed, streptomycetes are industrial producers of more than 50% of antibiotics of microbial origin. However, natural level of antibiotic production for most strains; majority of SM biosynthetic gene clusters within *Streptomyces* genomes are not expressed under normal conditions (cryptic). It is therefore essential to generate antibiotic overproducing strains.

Here we studied the influence of *rpsL* gene in merodiploid state on SM production of *S. albus* J1074 strains. The product of *rpsL* gene is S12 ribosomal protein, a part of 30S ribosomal subunit. S12 is important for decoding process and takes part in codon-anticodon recognition and stabilization during protein synthesis [Sharma et al., 2007]. Because of essential role of S12 protein, many mutations in its gene are lethal. Nevertheless, some missense *rpsL* mutations lead to distinct changes in metabolism. Some mutant *rpsL* alleles were shown to confer antibiotic resistance to *Streptomyces* [Hu and Ochi, 2001] and to increase antibiotic production in *S. coelicolor* and *S. lividans* [Shima et al., 1996; Wang et al., 2008]. Those studies were done

mostly on so called “pure” mutants, where wild type *rpsL* gene was replaced with mutated allele. In our work we used *S. albus* J1074 *rpsL* merodiploids. That is, our strains carry both native and mutant *rpsL* alleles; the latter resides in actinophage VWB *attB* site. In total we studied nine different merodiploids carrying missense mutation, codon insertion and combinations thereof. Some of the merodiploids carry those missense mutations (such as L90K and K88R) that were impossible to generate in a pure state (probably because of lethality). It gave us an opportunity to study the effects of ribosomal heterogeneity on secondary metabolism.

Because *S. albus* does not produce any antibacterial compound under typical laboratory conditions, gene cluster for aranciamycin biosynthesis (*ara*) was introduced into 9 merodiploids and wild type strain. *S. albus ara+* merodiploid strains were grown in liquid medium SG1 and antibiotic titers were quantified using a number of analytical (TLC and spectrometry of extracts) and microbiological (disc diffusion and agar plug) approaches. It was observed that merodiploids with P91S, K88E or R94G point mutations have decreased aranciamycin production as compared to wild type. This is in clear contrast to the results obtained for the same alleles in pure state; there, R94G substitution in pure state leads to the highest aranciamycin titers (on average, 6-fold increase in comparison the wild type). At the same time merodiploids with R86P, L90K or with double K88E+P91S substitutions showed increased level of antibiotic production.

So, ribosomal heterogeneity with regard to S12 protein does impact SM production. Such influence depends on the type of amino acid substitution in S12. In general, merodiploids are inferior to pure *rpsL* mutants in terms of levels of aranciamycin production. However, they allow to study *rpsL* alleles lethal in pure state; and they may be useful for activation of certain SM. Probably, ratio of mutated to wild type S12 protein in the cell determines the final outcome for a given phenotype, (here, SM production by *Streptomyces*). It will be interesting to test various solid media to reveal those that elicit the production of native antibiotics by *S. albus*. If such media could be found, one may study how presence of mutant *rpsL* changes endogenous secondary metabolism of *S. albus*.

Haiboniuk I.^{1,2}, Tyrkus M.¹, Makukh H.¹

THE EXTENSIONAL ANALYSIS OF HETEROCHROMATIN MARKER SY160 AMONG
MAN WITH OF AZF MICRODELETIONS OF Y-CHROMOSOME

¹SI «Institute of Hereditary Pathology Ukrainian National Academy of Medical Sciences»

²Ivan Franko National University of Lviv

Hrushevskoho st, 4, Lviv, 79005, Ukraine

e-mail: ivankahaiboniuk@gmail.com

AZF microdeletions of Y-chromosome represent the most common one genetic cause of severe spermatogenesis impairment. For persons with microdeletions one of the options is the use of assisted reproductive technology. As AZFc deletion pattern is constant but not always identical an important criterion of expediency recommendations using assisted reproductive technologies is the existence of a locus sY160 of AZF region of Y-chromosome. Terminal deletion (absence of sY160 marker) associated with negative results of ICSI has been considered a negative prognostic factor for the presence of testicular spermatozoa. [Jaruzelska et al].

The purpose of our work was to elaborate sY160 locus testing and to establish frequency of terminal AZFc deletions in a group men with different AZF microdeletions of Y-chromosome. The material for the study was the DNA of 46 men with different kind of AZF microdeletions (AZFb - 1, AZFb+AZFc - 6, AZFc - 39). Among them 16 patients with aspermia, 20 with azoospermia, 10 with oligospermia. The molecular-genetic study of terminal deletions (absence of sY160) was carried out using allele-specific polymerase chain reaction (PCR). The extensional analysis of heterochromatin marker sY160 was done according to the EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions [C. Krausz, L.

Hoefsloot, M. Simoni]. PCR products were separated on 2% agarose gel stained with ethidium bromide on the basis of the size of the product obtained.

As a control, one sample of female, one sample of fertile male genomic DNA and one sample which contained all reaction components, but in which water instead of DNA was added, were run with each set of primers. After the PCR analysis the presence sY160 heterochromatin marker was confirmed in 39 cases (84.8%) and absence of sY160 in 7 men (15.2%). In our study it was detected sY160 absence in 2 men with AZFc microdeletion and in 5 men with AZFb+AZFc microdeletions. It is important to point out that terminal AZFc deletion was confirmed in 83.3% of cases of AZFb+c microdeletions and only in 5.1% of isolated AZFc microdeletions. The obtained results shown the possibility to obtain the testicular spermatozoa and TESE chance for 37 (94.9%) of male with AZFc (b2/b4) microdeletions. Terminal deletions (absence of sY160) are more often associated with mosaic karyotype (46,XY/45,X) [Patsalis et al.]. In our study we identified chromosomal abnormality in 1 patient which have AZFb+c microdeletions.

Thus, among 15.2% man with different AZF microdeletions of Y-chromosome the heterochromatin marker of terminal deletion sY160 was absent, mostly in cases of AZFb+c microdeletions - 83.3% compare to 5.1% of isolated AZFc microdeletions. The implementation of testing of marker of terminal deletion - sY160 for man with AZFc microdeletions of Y-chromosome may help to determine if the deletion corresponds to the b2/b4 pattern and to avoid biopsy in man which most likely not benefit from the surgical procedure.

Koshla O¹, Kravets V^{1,2}, Yuskiv Kh², Ostash B¹.

**SOME PROPERTIES OF *STREPTOMYCES ALBUS* J1074 STRAINS
CARRYING *RPSL* MISSENSE MUTATION K88E**

¹Ivan Franko National University of Lviv, Hrushevskoho 4, Lviv, 79005, Ukraine
e-mail: mobiliti0500@gmail.com

²Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Pekarska 68, Ukraine

The product of *rpsL* gene is S12 protein, essential component of 30S ribosomal subunit. S12 protein is associated with 16S rRNA and takes part in mRNA decoding process during translation through the stabilization of correct codon-anticodon pairs [Gregory et al., 2009]. It was shown that some mutation in *rpsL* gene, resulting in amino acid substitution on protein level, cause antibiotic resistance and affect translation process. For example, substitution of lysine to glutamic acid at 88 protein position (K88E) in *S. coelicolor* results in streptomycin (Str) resistance because it weakens antibiotic binding to ribosome [Wang et al., 2009]. Such kind of resistant ribosomes are also hyperaccurate, making less errors during protein synthesis, and are more stable than wild type ribosomes. For *S. coelicolor* K88E mutant possesses increased level of actinorhodin synthesis at later stages of growth [Hosaka et al., 2006].

In this work *S. albus rpsL* mutant (*S. albus* K88E) and merodiploid (wild type *rpsL* gene + mutated *rpsL* allele in the same genome, *S. albus* K88E-ex) strains were studied for general growth properties. For WT strain and for K88E mutant there is only one copy of the same *rpsL* gene per genome, so only one type of ribosomes is formed: wild type Str sensitive (StrS) ribosomes and Str resistant (StrR), respectively. Merodiploid strain is expected to produce both wild type and mutant S12 proteins, and so might carry two types of ribosomes, referred here to as StrS and StrR. So, population of merodiploid ribosomes is likely to be heterogeneous, although exact sizes of StrS and StrR subpopulations are unknown. One way to glean into this problem is to measure the levels of Str resistance in WT, K88E and K88E-ex strains grown under different regimes.

To determine the level of Str resistance for merodiploid strain, it was grown in TSB medium and then dilutions of culture were plated on TSA+Str 100 mkg/mL (this concentration decreases the survival of WT below 10⁻⁹ and allows for 100% growth of K88E mutant). Absolute majority of K88E-ex colonies was StrS; a few StrR colonies were observed. Ratio of StrR/StrS

merodiploid colonies was determined at different timepoints of liquid culture growth. Such a ratio was near 10^{-8} - 10^{-7} at early stages (24-48 h), when culture is growing exponentially, and it increased to 10^{-7} - 10^{-5} at later growth period (72 h and later). We also determined StrR/StrS ratio for the WT; here it was lower (10-100 times) at all timepoints. Using co-culture competition assay, we showed that, in course of 6 passages, K88E and K88E-ex strains did not have significant fitness defects in comparison to WT.

Our results can be framed into following model. First, the frequency of incorporation of mutant (K88E) form of S12 protein into the ribosomes is likely to be low and stochastic, so that only small fraction of cells contains enough (majority of total ribosomal population?) S12(K88E)-based ribosomes to exhibit StrR phenotype. Second, the fraction of S12(K88E)-based ribosomes grows with a time, probably because K88E S12 confers higher stability to ribosomes (as compared to wild type S12). So, S12(K88E)-based ribosomes become more numerous as the wild type ribosomes are degraded in late growth phase [Hosaka et al., 2006].

If this kind of behaviour is true for the other S12 mutant proteins, then we should expect that the most pronounced effect of *rpsL* mutations on antibiotic production by merodiploids is in stationary phase (when mutant ribosomes dominate). Also, our data suggest that increased transcription of mutant *rpsL* alleles might be one way to enhance antibiotic production by the merodiploids. Finally, since different levels of antibiotic production are observed for some *S. albus* mutants carrying the same *rpsL* allele in pure and merodiploid state, the “demography” of ribosomal population (with regard to S12) is playing important role in secondary metabolism. It therefore remains a topic of special interest to find experimental approaches to quantify and manipulate the heterogeneity of ribosomes in *rpsL* merodiploids of *S. albus*.

Melnikava A., Volkava D., Leanovich S.

CREATION OF TRANSGENIC PLANTS AS THE WAY TO OVERCOME NEGATIVE IMPACTS OF ENVIRONMENTAL STRESSORS

Belarusian State University, 4, Nezavisimosti ave, Minsk 220030, Republic of Belarus
e-mail: alesiamelnikava@gmail.com

Ethylene is an essential gaseous plant hormone. It is responsible for many aspects of plant growth and development such as germination, flowering, leaf senescence and abscission, fruit ripening, but under stressful conditions excessive amounts of ethylene are produced which result in the repression of root growth and hypocotyl elongations, defoliation, abnormal development, and growth retardation [Abeles et al., 1992]. The synthesis of ethylene in plants is directly proportional to the concentration of its precursor 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) [Shaharoona et al., 2006]. It can be cleaved by ACC deaminase produced by various rhizobacteria, therefore level of ethylene in stressed plants decreases [Glick, 2005; Hontzeas et al., 2004]. To date, there are only a few reports of plant-encoded ACC deaminase genes (*acdS*), such as in *Arabidopsis*, poplar and tomato [McDonnell et al., 2009; Plett et al., 2009]. The ability to inhibit synthesis of ethylene in a plant without the necessity for exogenous application and uptake of chemical inhibitors should permit to overcome negative impacts of environmental stressors.

The *acdS* gene encoding AcdS is found in various PGPRs in different genera including *Enterobacter*, *Achromobacter*, *Rhizobium*, *Pseudomonas* and *Variovorax* [Glick et al., 2014]. Our experiment was aimed to construct transgenic tobacco plants with ACC deaminase gene from the bacterial strain *Pseudomonas putida* B-37. In our previous investigation the strain showed positive plant growth-promoting activity when inoculated into cucumber (*Cucumis sativus*), tomato (*Lycopersicon esculentum*), and rapeseed (*Brassica napus* L.).

To develop transgenic *Nicotiana tabacum* plants overexpressing the *acdS* gene from *P. putida* strain B-37, the coding sequence of *acdS*-gene was PCR-amplified to incorporate BamHI restriction ends. The restricted DNA fragment was cloned into plants expressing pBI121

plasmid containing a 35S CaMV promoter. Then, the transgene construct was integrated into the genome of *Nicotiana* using the floral-dip method for *Agrobacterium tumefaciens*-mediated plant transformation [Clough et al., 1998]. Monitoring of *acdS*-gene presence in received callus culture was carried out by PCR. Homozygous T3 plants harboring a transgene insertion at a single locus of the *Nicotiana* genome will be selected and used for further analyses.

Pyzh M., Ostash I.

A CONSTRUCTION OF PLASMID FOR *S136_3375* GENE
OVEREXPRESSION IN *STREPTOMYCES CYANOGENUS* S136.

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskoho, Lviv 79005, Ukraine
e-mail: marunkapyzh@gmail.com*

Appearance of tumor cells resistant to chemotherapeutic compounds is one of the reasons why cancer is incurable disease. The resistance often is caused by active drugs transportation from the cells via proton-dependent multidrug resistant P-glycoprotein. Landomycins are polyketide antibiotics, which possess activity against drug resistant tumor cells. Landomycin A is produced by strain *Streptomyces cyanogenus* S136. Genetic control of landomycin A biosynthesis is governed by gene cluster, *lan*-cluster. The functions of *lan*-cluster genes are well studied. Gene *lanJ* belongs to *lan*-cluster and incodes proton-dependent transporter. Product of *lanJ* was described as involved in landomycins export but not as a main mechanism. The existence of alternative landomycin exporters in S136 can't be excluded.

This work is focused on *lanJ* homologues search in *Streptomyces cyanogenus* S136 genome and study its functions. An open reading frame *S136_3375* was discovered by pairwise alignment of *lanJ* gene to genome of S136. Revealed *S136_3375* gene encodes putative proton dependent protein, aminoacid sequence of which possesses 71% of similarity to *lanJ*. It can be involved in landomycin export as alternative transporter. One of the approach to study gene function is it's overexpression under heterologous promoter. A high transcription activity was described for promoter of gene *moeE5* (*moeE5p*). An integrative actinophage phiC31-based plasmid pMO32 was constructed that contain *S136_3375* gene under *moeE5p* promoter. The plasmid was introduced into S136 via intergenic *E. coli* – *Streptomyces* conjugation that yielded strain S136 (pMO32). The presence of pMO30 in obtained transconjugant strain was confirmed with PCR. Future study of S136 (pMO32) phenotype will allow to elucidate the role of *S136_3375* gene in landomycin export and biosynthesis as well as in resistance to other chemical compounds.

Sehin Y., Ostash B.

POST-TRANSCRIPTIONAL TRNA MODIFICATIONS AS REGULATORS
OF SECONDARY METABOLISM AND MORPHOGENESIS
STREPTOMYCES GHANAENSIS ATCC14672

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskoho, Lviv 79005, Ukraine
e-mail: julia22sehin@gmail.com*

There is an uncontrolled increase in the number of bacterial infections worldwide that are resistant to most known drugs. This calls for discovery and development of novel compounds. Actinobacterial genus *Streptomyces* was and remains to be an important source of antimicrobial agents. Phosphoglycolipid moenomycin A (MmA) is one example of the promising antibiotic produced by *Streptomyces ghanaensis* ATCC14672. It is one of the most potent antimicrobial agents, acting at nanomolar concentrations, as an inhibitor of peptidoglycan glycosyltransferases.

MmA has a unique chemical structure and mechanism of action distinct from those of the other classes of antibacterial drugs. Currently there are no known pathogens resistant to it. This makes moenomycins the compounds of tremendous practical interest. Among several lines of MmA-related research, it is important to understand the regulation of its biosynthesis, so that one could develop economically feasible way of its biotechnological production.

This work deals with regulatory switch based on rare UUA codon and its cognate tRNA^{Leu}_{UAA}, or *bldA*, which was shown to control the initiation of MmA production. Briefly, UUA codons are found only five times in key MmA biosynthesis genes (*moeO5* and *moeE5* that govern first steps of MmA formation), and their delayed translation confines MmA production to late stage of growth. However, it is not known what in first turn limits the occurrence of mature tRNA^{Leu}_{UAA}. Using Himar transposon mutagenesis, we identified *S. ghanaensis* HIM5 mutant that showed impaired aerial mycelium formation (a hallmark of *bldA* mutants). HIM5 carries Himar insertion into *ssfg_01967* gene, a homolog of *E. coli miaB* controlling thiomethylation of A₃₇ position of several tRNAs, including tRNA_{UAX}. Electron scanning microscopy confirmed morphological arrest of HIM5 strain. Also we revealed that MmA production is severely reduced in HIM5. As judged from semiquantitative RT-PCR analysis, *ssfg_01967* is very weakly expressed gene over the entire growth curve, and so amounts of its translation product (MiaB) might limit the formation of fully modified tRNAs (including *bldA*). Expression of *ssfg_01967* gene under different promoters in HIM5 and *S. albus* J1074 *miaA*- and *miaB*-mutants partially complemented defects in morphogenesis and secondary metabolism of these strains. To this end we have also constructed the plasmid for *ssfg_01967* knockout in *S. ghanaensis* ATCC14672 to verify that the observed phenotype of HIM5 is solely due to blocked *ssfg_01967* expression.

Our data are compatible with the hypothesis that HIM5 carries undermodified tRNA pool, including tRNA^{Leu}_{UAA} without thiomethylated A₃₇. This tRNA might not be able to read UUA codons in mRNAs of genes for morphological development (e.g. *adpA*) and MmA biosynthesis (e.g. *moeO5*, *moeE5* etc). Under wild type conditions, *ssfg_01967* expression might be low enough to prevent accumulation of mature (A₃₇-modified) before *S. ghanaensis* cells enter stationary phase. So, pattern and/or temporal dynamics of tRNA^{Leu}_{UAA} posttranscriptional modification could be at the heart of regulatory properties of this tRNA. Currently we are working towards generation of *ssfg_01967* knockout; more detailed analysis of HIM5-complemented strains; and purification of total tRNA from *S. ghanaensis* ATCC14672 and HIM5 to examine their posttranscriptional modification status.

Vasylenko A., Tistechok S., Ostash B., Fedorenko V., Gromyko O.

PLEIOTROPIC REGULATORS EFFECT ON PROPERTIES
OF THE ACTINOMYCETES STRAINS FROM PHYLLOSTACHYS
VIRIDI-GLAUCESCENS (CARR.) A. ET C. RIVIERE RHIZOSPHERE

*Ivan Franko National University of Lviv
Hrushevskiyi st., 4, Lviv 79005, Ukraine
e-mail: aiva18@yandex.ua*

Actinomycetes produce many industrially important compounds, but in the first place they are known as producers of antibiotics. Antibiotics are toxic for their producers, and antibiotic biosynthesis is under strict genetic control. Secondary metabolism is controlled in general on two levels of regulations: specific for the pathway of biosynthesis of a particular antibiotic and global (pleiotropic). Manipulation of regulatory genes is one of the methods of activation of cryptic clusters. Another aspect of the study of regulation deals with the fact whether these regulatory networks, studied in model objects (*S. coelicolor*), may be applied to the regulation of the production of the secondary metabolomes of all *Actinomyces* and for increasing the production of known compounds and discovery of new ones.

The aim of this study was to analyze an effect of pleiotropic regulatory genes of antibiotic activity actinomycetes strains, which were isolated in Nikita Botanical Gardens (Crimean Peninsula) from *Phyllostachys viridi-glaucescens* (Carr.) A. et C. Riviere rhizosphere.

We selected 8 actinomycetes strains from 133 isolates, which didn't have antibiotic activity to the gram-negative bacteria: *P. syringae* IMB 8511, *E. coli* ATCC25922, *A. tumefaciens* IMB8628, *E. amylovora* Mi2; gram-positive bacteria: *X. campestris* pv. *campestris* IMB80036, *S. aureus* ATCC25923, *M. luteus* ATCC4698, *E. amylovora* Mi2; and fungi *Foxysporum* IMB 54201.

Next we introduced pleiotropic regulatory genes of morphogenesis and secondary metabolism in actinomycetes strains by using conjugation with *E. coli* WM6026: K88R.1 mutation in allele *rpsL* gene, *adpA* – AraC-XylS family transcriptional regulators, *absA1* – sensor kinase gene. We've got collection of recombinant strains, which have this regulatory genes. Further we found, that only one strain Lv 4-189, with all regulatory genes, inhibit growth some test-cultures (*S. aureus*, *M. luteus*, *X. campestris* pv. *campestris* and *E. amylovora*) in the study of antibiotics activity recombinant strains, unlike wild type. Others recombinant strains, and their wild types didn't have antibiotics activity to the used test-cultures.

In addition, presence of pleiotropic regulatory genes had effect on the morphogenesis of studied strains. *absA1* have shown significant changes in the phenotype when grown on agar plates, such as changes in sporulation and pigmentation in 2 strains, *adpA* – 5 strains and K88R.1 mutation in allele *rpsL* – 4 strains, from eight studied isolates. But, we didn't observe regularity of changes in the phenotype.

So, introduced *adpA*, *absA1* and *rpsL* K88R.1 genes are results of the appearance of antibiotics activity to the gram-negative and gram-positive bacteria some actinomycetes strains. Our results showed perspective of using this method during actinomycetes screening – producers of bioactive compounds that are not produced under standard conditions of fermentation.

ЕКОЛОГІЯ / ECOLOGY

Баранова С., Барановський М.

ЗАКОНОМІРНОСТІ ФОРМУВАННЯ ЕНТОМОНОКОМПЛЕКСУ ТРИПСІВ ДЕКОРАТИВНИХ РОСЛИН В УМОВАХ УРБАНІЗОВАНИХ ТЕРИТОРІЙ

Національний авіаційний університет
пр. Космонавта Комарова 1, м. Київ, 03058, Україна
e-mail: sashunya19@ukr.net

Baranova S., Baranovsky M. LAWS OF FORMATION ENTOMONOKOMPLEKS THIRPS ORNAMENTAL PLANTS IN URBAN AREAS CONDITIONS. Determined that the THIRPS applied decorative plants not only mehanine damage, but indirectly. Thrips can carry viral diseases of plants such as TSWV, GBNV and WSMV. Due ornamental plants trade between countries, and the transfer of thrips. So ynom in Ukraine can be found two types of quarantine is thrips *Frankliniella occidentalis*, *Thrips palmi*.

Інтродуковані декоративні рослини є дуже чутливими до абіотичних і біотичних факторів середовища. Серед абіотичних факторів важливими є температурний режим, освітлення, гідроедафічні фактори тощо. Серед біотичних факторів, які значно впливають на ріст і розвиток інтродукованих декоративних рослин, є шкідники та хвороби. Серед найбільш шкідливих членистоногих є представники ряду торочкокрилих (Thysanoptera), або трипси. Трипси здатні завдавати механічного (прямого) пошкодження під час живлення та розмноження, а також опосередкованого шляхом перенесення вірусних захворювань рослин.

Аналіз наукових літературних джерел [П. Чумак, 2010, М. Барановський, 2004, О. Слободенюк, 2006] показав, що найбільш поширені трипси в тепличних умовах в Україні є трипси родини *Thripidae*. У цій родині до найчисельніших родів відносять рід *Thrips*, який приблизно налічує 280 видів та рід *Frankliniella*, який налічує 220 видів. Трипси цієї родини є космополітами. Найбагатший видовий склад цієї родини трапляється в тропіках та субтропіках, однак завдяки активній торгівлі декоративними рослинами представники цього роду розселилися практично по всій території, де займаються декоративним рослинництвом [Mound, 2004; Zerega et al., 2004]. На території України небезпечні представники цієї родини, такі як *Frankliniella occidentalis*, *Thrips palmi* занесені до списку небезпечних карантинних об'єктів, проте ці комахи можливо виявити і далеко за межами тепличних господарств.

Трипси здатні переносити такі віруси, як – вірус бронзовості томатів (TSWV), некроз розетки земляного горіха (GBNV) та вірус білої плямистості кавуна (WSMV) [W. R. Allen 1986, P. W. Amin 1979], через що їх вважають дуже небезпечними. Переносниками тосповірусів є такі представники трипсів, як *Frankliniella occidentalis*, *Frankliniella schultzei*, *Thrips palmi* [A. Whitfield, D. Ullman, T. German, 2005].

В умовах урбанізованих територій в екосистемах захищеного ґрунту та на відкритих територіях вирощують різноманітні культури такі як проліски, троянди, крокуси, азалії, орхідеї, кактуси, різні тропічні та субтропічні рослини та багато інших. З них більшість є інтродукованими культурами. Із завезеними садивними матеріалами потрапляють і шкідливі організми. Найчастіше на квітках трапляються західний квітковий трипс *Frankliniella occidentalis* (Pergande), трипс Пальмі (*Thrips palmi* Karny) та ехіотрипс американський (*Echinothrips americanus* Morgan). Ехіотрипс американський, на відміну від двох попередніх, не входить до переліку шкідників, що мають карантинне значення в Україні. Проте в багатьох країнах Європи він має статус шкідника. В літературі зазначено, що спочатку ці трипси, мешкали на декоративних рослинах, а з часом почали атакувати і інші рослини [М. Барановський, 2002].

Тому моніторинг видового складу ентомологічного комплексу шкідливих трипсів декоративних рослин в умовах захищеного та відкритого ґрунтів урбанізованих територій є надзвичайно актуальним.

Бублик Я.

ВИДОВІ РЯДИ КСИЛОТРОФНИХ АСКОМІКОТІВ В ЕКОЛОГІЧНИХ НІШАХ У ПРОЦЕСІ ДЕСТРУКЦІЙНОЇ СУКЦЕСІЇ НА МЕРТВОМУ ВІЛЬХОВОМУ СУБСТРАТІ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: bublykyaroslav1302fungi@gmail.com

Bublyk Ya. THE ROW SPECIES OF XYLOTROPHIC ASCOMYCETOUS FUNGI IN THE ECOLOGICAL NICHES IN DEGRADATION SUCCESSION PROCESS ON DEAD SUBSTRATE OF ALDER. The order of succession changes in the ecological niche of xylotrophic ascomycetous fungi is common for all woody substrates of alder. The species composition of sac fungi on black alder (*A. glutinosa*) were ordered by ecological niches (plant organs) and changed in the temporal aspect.

Деструкційна сукцесія в процесі розкладу деревини відбувається дуже повільно, окремі стадії можуть тривати роками і навіть десятиліттями. Одні гриби замінюються іншими, які підготовлюють екологічні ніші для розвитку наступних видів. Тому явище видових рядів в конкретних екологічних нішах залишається до цього часу не достатньо добре вивченим [Исиков, Конопля, 2004].

Зміни видових рядів ми спостерігали для видів-домінантів ксилосапротрофних аскових грибів, зібраних на мертвих стовбурах та гілках вільхи. Для аналізу екологічних ніш ксилотрофних аскомікотів нами було адаптовано класифікацію для грибів на мертвій деревині В.П. Ісікова [Исиков, Конопля, 2004]. Послідовність появи ксилосапротрофних аскомікотів на мертвій деревині визначали за допомогою п'ятибальної шкали деструкції деревного субстрату П. Ренвалла [Renvall, 1995].

На мертвому субстраті вільхи клейкої (*Alnus glutinosa*) при встановленні видових рядів ксилотрофних аскомікотів у лісових екосистемах Сколівських Бескидів, під час дослідження встановлено, що ксилотрофні аскомікоти колонізують деревину у перезволожений оселищах.

На мертвому вільховому субстраті у типі просторової екологічної ніші ксилотрофних грибів «пагони IV порядку (діаметр 3-10 мм)» видовий ряд має такий вигляд: *Brachysporiella gayana* → *Tytrpanis alnea*. В типі просторової екологічної ніші грибів «пагони III порядку (діаметр 10-15 мм)» деревини вільхи клейкої видовий ряд ксилотрофних аскових грибів виглядає таким: *Hypoxylon fuscum* / *Melanomma pulvis-pyrius* → *Tytrpanis alnea* / *Eutypella alnifraga*. Видовий ряд при перезволожених умовах в типі просторової екологічної ніші грибів «пагони II порядку (діаметр 15-25 мм)» набуває такого вигляду: *Hypoxylon fuscum* → *Melanconis alni*. Видовий ряд в типі просторової екологічної ніші дереворуйнівних аскових грибів «пагони I порядку з $d \geq 25$ мм» є наступним: *Hypoxylon fuscum* → *Melanconis stilbostoma* → *Annulohypoxylon multiforme* → *Lophiostoma rugulosum* → *Tubeufia cerea* / *Lasiosphaeris hirsuta*. В просторовій екологічній ніші грибів на верхніх частинах стовбура, в перезволожених умовах виростання видовий ряд аскомікотів має таку послідовність: *Annulohypoxylon multiforme* → *Lasiosphaeris hirsuta* / *Pseudospiropes simplex*. В просторовій екологічній ніші ксилотрофних грибів на центральних частинах стовбура в процесі деструкції встановлено такий видовий ряд: *Annulohypoxylon multiforme* → *Iodosphaeria* sp. в стадії анаморфи *Ceratosporium gracile* → *Chaetosphaerella fusca* в стадії анаморфи *Oedemium didymium* → *Bactrodesmium biformatum* / *B. longisporum* + *Pseudospiropes simplex*.

В останньому типі просторової екологічної ніші ксилотрофних сумчастих грибів на деревині вільхи клейкої видовий ряд не встановлений.

Отже, у процесі деструкції мертвого деревного субстрату за участі дереворуйнівних аскових грибів утворюється значне різноманіття спеціалізованих екологічних ніш аскомікотів, що відображає на видовому рівні усталений порядок їх просторово-часових змін.

Драч Ю., Чуба М., Мамчур З.

ЕКОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ МОХОПОДІБНИХ ЛЬВІВСЬКОЇ ЗАЛІЗНИЦІ

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79000, Україна
e-mail: yuradrach91@gmail.com*

Drach Y., Chuba M., Mamchur Z. THE ECOLOGICAL FEATURES OF BRYOPHYTES OF RAILWAY IN THE LVIV CITY. We explored the ecological analysis, features of systematic and character of the distribution of bryophytes in the different ecotypes of railway in the Lviv city. There are 41 species from 15 families of Bryophyta and Marchantiophyta. It has been found, that synanthropic bryoflora is exclusively represented by apophytes. The ecological structure of bryophytes is characterized by mesophytic group, mesoeutrophs and mesotrophs domination, by hemisciophytes, subheliophytes and mesotermophytes species.

Мохоподібні є важливим компонентом техногенних екотопів і беруть участь у процесах їх самовідновлення. Бріологи [Машталер, 2005; Кузярін 2010; Кияк Н., 2011; Карпінець, Лобачевська, 2014; Рагуліна, 2015] вивчали видовий склад, екофізіологічні особливості, поширення бріофітів насамперед на територіях техногенних кар'єрів. Для території залізниці України такі дослідження проведені вперше.

Метою й завданням дослідження було виявлення видового складу, проведення екологічного аналізу та встановлення особливостей поширення видів мохоподібних у різних екотопах залізниці м. Львова. Дослідження проводили маршрутним методом упродовж 2015-2016 рр. на п'ятьох ділянках залізниці міста, де було обстежено три групи екотопів: саме залізничне полотно, у тому числі полотно недіючих ділянок колій; трав'янисті схили, кам'янисті насипи і канами; стежки і смуги обабіч залізниць.

У результаті наших досліджень виявлено 41 вид мохоподібних із 30 родів, 15 родин, 9 порядків, 2 відділів. За кількістю видів переважають родини Brachytheciaceae (19,5 %), Mniaceae (12,2 %), вагома участь Amblystegiaceae (9,8 %) і Pottiaceae (9,8 %). Мохоподібні виявлені на смугах (68,3 %), а також насипах і в канавах (56,1 %), на залізничному полотні (9,8 %). Найбільше видове різноманіття зафіксували у смугах, де траплялися різні субстратні групи бріофітів (не лише епігейні й епілітні, а й епіфітні й епіксільні).

Синантропні види мохоподібних представлені виключно апофітною фракцією, що характерно для України загалом [Бойко, 2005]. Незначною мірою переважають евтапофіти (52,63 %) – види, які частіше обирають природні умови середовища, і дещо рідше геміапофіти (47,37 %), які однаково трапляються, як у природних, так і в антропогенно змінених екотопах. Три види є індігенофітами.

У біоморфологічній структурі бріофітного компонента переважають види, що утворюють килимову (41,5 %) і дернинну життєві форми (39 %).

Серед гігморф найбільше є мезофітів (29,3 %), які обирають помірно вологі умови. Кількість гігрофітів і гігромезофітів складає 12,2 % і 14,6 % відповідно. На відкритих ділянках, де затримується мало опадів, трапляються ксерофіти і ксеромезофіти (по 17 %) та ультраксерофіти (4,9 %). Стосовно світла переважають гемісціофіти (36,6 %) і субгеліофіти (31,7 %), але значну частку складають світлолюбні види: геліофіти (14,6 %) й ультрагеліофіти (9,8 %), найменшою є група сціофітів (7,3 %). Щодо температурного режиму:

виявлені мезотермофіти (53,7 %), оліготермофіти (34,1 %), решту (12,2 %) видів є індіферентними. Серед трофоморф виділено: мезотрофи (28,2 %), мезоевтрофи (33,3 %), евтрофи (20,5 %), олігомезотрофи (18 %).

Отже для мохоподібних території залізниць м. Львова, незважаючи на значне техногенне навантаження і забруднення екотопів, притаманне значне видове різноманіття та широкий спектр екологічних груп. Основними місцями для їхнього поселення слугують смуги вздовж залізничних шляхів і ділянки недіючих колій, проте вони знаходять ніші на залізничному полотні та канавах обабіч колій. Окрім синантропних видів, а саме апофітів, трапляються індігенофіти, які зазвичай поширені в природних екотопах.

Ізак З., Бережанська Б., Монастирська С.

ТОКСИЧНІСТЬ ҐРУНТІВ У МЕЖАХ АВТОЗАПРАВНИХ СТАНЦІЙ М. ДРОГОБИЧ

Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка

вул. Шевченка 23, м. Дрогобич, 82100, Україна

e-mail: bozhenka17@gmail.com

Izak Z., Berezhanska B., Monastyrskaya S. SOIL TOXICITY AROUND PETROL STATIONS OF DROHOBYCH. We investigated the soils toxicity around the petrol stations of Drohobych by the biotesting method. As test-objects used *Allium cepa* and *Lactuca sativa*. Established that soil substrates around the petrol station OKKO (Stryis'ka street, intersection) does not have significant phytotoxicity but have the least genotoxic effects. And also established that soils around petrol stations WOG (V.Velykoho street, Sambirs'ka street) are the most toxicity that evidenced the phytotoxic index.

Ґрунти, як унікальне екологічне середовище і акумулююча система, здатні нагромаджувати різноманітні поліутанти, чільне місце серед яких належить важким металам, засобам захисту рослин і нафтопродуктам. Вони є основним джерелом забруднення суміжних територій і мають як загальнотоксичну дію на живі організми, так і виражену мутагенну активність [Валерко, 2013].

Небезпечним типом техногенного навантаження на довкілля є автотранспортне забруднення, яке має значний вплив на ґрунти і наземні екосистеми пришляхових смуг. У відпрацьованих газах двигунів внутрішнього згоряння міститься понад 160 шкідливих речовин [Тітенко, 2007].

Поряд зі збільшенням автотранспорту в містах розростається сотні автозаправних станцій, які розташовані майже впритул до житлових будинків, шкіл та дитсадків. Щоденне заповнення їх резервуарів нафтопродуктами чинить негативний вплив на прилеглі території.

Однак, у літературних джерелах ми не знайшли аналізу впливу токсичних речовин на ґрунтовий покрив навколо АЗС.

Тому метою наших досліджень стало проведення аналізу техногенно забруднених ґрунтів у межах автозаправних станцій м. Дрогобича.

Для проведення дослідження ми використовували 4 проби ґрунту: ґрунтові субстрати у межах АЗС WOG (вул.Самбірська, вул. В.Великого); ґрунтові субстрати в межах АЗС ОККО (перехрестя Львів-Стрий-Дрогобич-Трускавець, вул.Стрийська)

Для екологічної оцінки ґрунту досліджуваної території відбирали 4 змішані проби за 20 м від АЗС. Біотестування проводилося за методикою А. Горової [Горова, 1996]. Як тест-культури використовували цибулю звичайну (*Allium cepa*) та насіння салату посівного (*Lactuca sativa*).

На основі визначення морфометричних показників тест-об'єктів встановлено індекс фітотоксичності досліджуваних ґрунтових субстратів. Як контроль використовували ґрунт з лісу біля с.Лішня.

Визначений нами індекс токсичності для АЗС WOG (вул.Самбірська) становив 12,83% по салату та 15,74% по цибулі; на АЗС ОККО (перехрестя) по цибулі індекс становив 4,7% по цибулі та 0% по салату; на АЗС WOG (вул.В.Великого) – 57,08% по цибулі та 7,25% по салату; на АЗС ОККО (вул.Стрийська) – 30, 35% по цибулі та 7,25% по салату.

Таким чином, проведені нами дослідження свідчать, що ґрунтові субстрати з АЗС ОККО (вул. Стрийська, перехрестя) не володіють значною фітотоксичністю і мають найменші генотоксичні ефекти. Найбільш забрудненими є проби з АЗС WOG (вул. В.Великого, вул. Самбірська), про що свідчить фітотоксичний індекс.

Отже, застосування подібних біотестів дає можливість оцінити шкідливість антропогенних факторів на навколишнє природне середовище і є ефективним засобом при визначенні токсичного впливу широкого спектра хімічних речовин на природні екосистеми.

Калиновська К., Савицька О.

**УГРУПУВАННЯ ПРІСНОВОДНИХ МОЛЮСКІВ
ГІДРОЕКОСИСТЕМ ШАЦЬКОГО НПП**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: kalyna94@gmail.com*

Kalynovska K., Savytska O. COMMUNITY OF FRESHWATER MOLLUSKS OF HYDROECOSYSTEMS OF THE SHATSK NATIONAL NATURE PARK. The species composition, distribution, ecological features of freshwater mollusks are investigated in the lakes Pisochne, Peremut and Luky of Shatsk National Natural Park.

Прісноводні молюски – важливий компонент прісноводних екосистем. Завдячуючи особливостям своєї біології їх популяції можуть траплятися у різних типах водойм, які характеризуються різноманітністю чинників зовнішнього середовища.

Упродовж весняно-літнього сезону 2016 р. досліджували малакокомплекси озер Пісочне, Перемут і Луки Шацького національного природного парку з метою з'ясування структури угруповань, їх видового складу та конхіологічних характеристик.

усі озера карстового походження, їх живлення відбувається за рахунок підземних вод та поверхневого стоку. Озера Перемут та Луки сполучені протокою, через яку здійснюється водообмін. За трофічністю озера Перемут і Луки є мезотрофними, о. Пісочне – олігоме-зотрофним. Для о. Пісочне характерна найбільша прозорість води, піщане дно. Дно озер Луки і Перемут переважно вкрите замуленим піском, місцями – шаром сапропелю.

Загалом в озерах було виявлено 16 видів прісноводних молюсків (*Viviparus contectus* Millet, *Viviparus viviparus* L., *Lymnaea stagnalis* L., *Lymnaea corvus* Gmelin, *Lymnaea ovata* Draparnaud, *Lymnaea auricularia* L., *Lymnaea palustris* O.F.Muller, *Lymnaea ampla* Hartmann, *Planorbis corneus* L., *Planorbis planorbis* L., *Anisus vortex* L., *Anisus spirorbis* L., *Segmentina nitida* O.F.Muller, *Unio pictorum* L., *Anodonta cygnaea* L., *Sphaerium corneum* L.).

Найбільша видова різноманітність була відмічена для малакокомплексів о. Пісочне, де загалом було обліковано 11 видів; в о. Перемут – 10 видів, в о. Луки – 7 видів.

Домінуючими видами в угрупованнях усіх озер були *L. stagnalis* та *P. corneus* (індекс домінування 37,5% і 32,5% відповідно).

Згідно індексів подібності Соренсена і Жаккара існує значна подібність малакокомплексів озер Пісочне і Луки (0,7 і 0,5 відповідно).

Конхіологічні показники *L. stagnalis* виявились дещо більшими для особин з о. Пісочне, порівняно з озерами Луки та Перемут (ВЧ - 39,53±1,96, 38,42±2,57, 38,55±4,44; ШЧ - 18,35±0,35, 18,07±1,90, 17,38±3,11; ВУ - 18,82±1,67, 17,85±2,14, 18,77±3,22 мм відповідно). В той же час для *P. corneus* ці параметри мали найбільше значення для молюсків з о. Пере-

мут, порівняно з особинами з озер Пісочне (найменші значення) та Луки (ВЧ - $10,00 \pm 2,00$, $8,30 \pm 0,30$, $9,63 \pm 1,35$; ШЧ - $19,60 \pm 0,40$, $16,45 \pm 2,55$, $18,55 \pm 1,84$; ВУ - $5,10 \pm 0,10$, $4,40 \pm 1,10$, $4,83 \pm 1,21$ мм відповідно). Отримані показники можуть свідчити про більш сприятливий комплекс чинників щодо екологічних вимог для *L. stagnalis* в о. Пісочному, для *P. corneus* – в о. Перемут.

Карпінєць Л.¹, Бешлей С.², Соханьчак Р.²

**ОСОБЛИВОСТІ ВОДНОГО РЕЖИМУ *CERATODON PURPUREUS* (HEDW.)
BRID. НА ВІДВАЛАХ ВУГІЛЬНИХ ШАХТ ЧЕРВОНОГРАДСЬКОГО
ГІРНИЧОПРОМИСЛОВОГО РАЙОНУ**

¹Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

²Інститут екології Карпат НАН України

вул. Стефаника, 11, м. Львів, 79005, Україна

e-mail: lyudmyla.vo@gmail.com

Karpinets L., Beshley S., Sokhanchak R. FEATURES OF WATER REGIME OF CERATODON PURPUREUS (HEDW.) BRID. AT COAL MINES DUMPS OF CHERVONOGRA D MINING AREA. It was found less water deficit of *C. purpureus* at the foot and on the terraces of dumps compared to that at their peaks, due to better micro-climatic conditions on these forms relief. Moss reserved water in 2.4-3.5 times of its own weight during water restoration, due to its anatomical and morphological structure, physiological and biochemical adaptations depending on edaphic and micro-climatic conditions.

Мохоподібні, особливостями водного режиму яких є пойкилогідричність і високий уміст поверхневої води, відзначаються високою цитоплазматичною стійкістю як до тривалого водного стресу, так і до висушування [Proctor, Tuba, 2002; Turetsky, 2003]. На відвалах вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району в умовах високої температури та малої вологості повітря й субстратів доміантним видом мохоподібних є *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. Метою роботи було вивчити особливості водного обміну моху на цих техногенно змінених територіях.

Визначення оводненості та водного дефіциту гаметофіту *C. purpureus* проводили за класичними методиками [Ніколайчук та ін., 2000; Пацула, Романюк, 2015]. Коефіцієнти водоутримування та водовідновлення визначали ваговими і розрахунковими методами [Іванюк, 2006; Нестерова, Григорюк, 2013]. Мікрокліматичні умови під дернинами моху (температуру, вологість субстрату та повітря) визначали за загальноприйнятими методиками [Аринушкина, 1970], інтенсивність освітлення вимірювали люксметром Ю116.

Встановлено, що водний дефіцит *C. purpureus* на різних відвалах та їх елементах мезорельєфу змінювався у літні місяці від 58 % в основі відвалу шахти «Надія» до 78 % на вершині відвалу шахти «Візейська» і перебував у оберненій залежності від вологості повітря над дерниною моху. У весняно-осінні місяці водний дефіцит моху становив 6-25 %, що є нормальним станом для функціонування рослинних організмів. Отже, протягом сезонних досліджень показано, що менший водний дефіцит *C. purpureus* встановлено у підніжжі та на терасах відвалів, порівняно із їх вершинами, що зумовлено кращими мікрокліматичними умовами на цих формах мезорельєфу: меншою інтенсивністю освітлення (на 10-20 тис. лк.), температурою (на 1-2 °C) та більшою вологістю повітря як над дерниною моху (на 4-10 %), так і субстрату під ним (на 5-13 %). При оводненості гаметофіту 6,7-13,7 % (у літні місяці) коефіцієнти водоутримування становили 94-98 %. Втрати води при досягненні такої оводненості практично не відбуваються, оскільки це мінімальна її кількість, яка необхідна для підтримання життєздатності виду. Навесні та восени коефіцієнти водоутриму-

вання перебували в межах 28-49 %. У процесі водовідновлення мох запасав воду в 2,4-3,5 рази більше своєї власної маси, що зумовлено його анатомо-морфологічною будовою та фізіолого-біохімічними пристосуваннями до едафічних і мікрокліматичних умов існування.

Отже, в екстремальних умовах водного забезпечення на шахтних відвалах *C. purpureus* завдяки своїй водоутримувальній здатності та швидкій регідратації існує не лише в затінених місцях, а й на відкритих ділянках різних елементів мезорельєфу відвалів вугільних шахт. Підвищення водоутримувальної здатності і ступеня відновлення води гаметофіту цього моху зумовлює його стійкість до посухи унаслідок зменшення втрат води в умовах водного дефіциту.

Корчевська В., Войцехівська О.

МОНІТОРИНГ ЖИТТЄВОСТІ ПОПУЛЯЦІЙ РІДКІСНИХ РОСЛИН РОДИНИ ORCHIDACEAE У ФІТОЦЕНОЗАХ ОКОЛИЦЬ С. СЕМИПОЛКИ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, 01601, Україна, ННЦ «Інститут біології та медицини»
e-mail: korchevska.viktoria@gmail.com

Korchevska V., Voytsekhivska O. MONITORING OF RARE PLANTS OF ORCHIDACEAE FAMILY POPULATION VITALITY IN PHYTOCENOSES OF SEMIPOLKI VILLAGE OUTSKIRTS. It is analyzed the population dynamics, vitality and age structure of populations of individuals of 4 rare plants of *Orchidaceae* - *Anacamptis palustris* (Jacq.) R.M. Bateman, *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó, *Dactylorhiza traunsteineri* (Saut. ex Reichenb.) Soó, *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó. The population age structure monitoring found that the most stable is the population of *Anacamptis palustris* species, the most volatile one is *Dactylorhiza maculata*. The effects of natural abiotic factors did not significantly affect to the population structure, while the effects of anthropogenic factors led to population depression.

Відомо, що в на сьогодні понад 20% видів флори Землі, та 3,7% флори України перебувають під загрозою зникнення [Собко, 2005]. Броварський район Київщини, розташований в межах Чернігівського Полісся згідно з лісорослинним районуванням територій, є надзвичайно багатим за видовим складом рідкісних, регіонально рідкісних та зникаючих видів рослин. Досліджена нами територія є флористично унікальною, адже в її рослинному покриві наявні рідкісні види родини *Orchidaceae*. Одними з найбільш надійних критеріїв оцінки життєздатності, сталості та перспектив популяцій є динаміка чисельності рослин, життєвості та вікової структури [Мусієнко, 2010]. Тому багаторічні стаціонарні дослідження на постійних пробних ділянках, закладених у межах популяцій раритетних видів, мають першочергове значення для розуміння процесів, що відбуваються у цих популяціях, оскільки є підставою для розробки дієвої системи заходів для їх збереження.

Об'єктами досліджень були ценопопуляції 4-х видів рідкісних рослин, що занесені до Червоної книги України (*Anacamptis palustris* (Jacq.) R.M. Bateman, *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó, *Dactylorhiza traunsteineri* (Saut. ex Reichenb.) Soó, *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó), які ростуть у лучно-болотних угрупованнях на околицях с. Семиполки, Броварського району Київщини. Дослідження ценопопуляцій проводили в умовах стаціонарів впродовж 2009-2016 рр. Облікові майданчики закладали в межах пробної ділянки фітоценозу та трансектах в межах площі єдиної популяції. Вікові стани рослин визначали за таблицею періодизації онтогенезу насінних рослин (за Т. Работновим та А. Урановим); віталітетну структуру - за методикою Ю. Злобіна; статистичну обробку даних - за Б. Доспеховим.

Динаміка чисельності особин упродовж років дослідження має флуктуаційний характер. Моніторинг вікових станів виявив здатність популяцій до омолодження, наразі досліджені популяції можна охарактеризувати як стабільні. Проте існує чітка тенденція до

зниження чисельності внаслідок антропогенного впливу. Найбільш стабільною виявилась популяція *Anacamptis palustris* (втрата чисельності 20,5%, популяція перебуває у зрілому стані з 2012 р.), найбільш мінливою - *Dactylorhiza maculata* (втрата чисельності 44,6%, постійна зміна вікових станів). Найбільше особин *Anacamptis palustris* виявлено на облікових ділянках, закладених в зоні не доступній для антропогенного впливу, а *Dactylorhiza maculata* – в зоні постійного викошування та витоптування великою рогатою худобою. Динаміка віталітетної структури популяцій показує, що щорічні зміни температурного і водного режиму не суттєво позначилися на стані популяцій, тоді як дія антропогенного чинника призводить до депресивних станів популяцій.

Отримані результати є підставою для проведення подальших моніторингових досліджень стану популяцій з метою виявлення критичних факторів антропогенного впливу. Для підтримки загальної екологічної рівноваги, розширення екологічного каркасу району, збереження та відтворення біорізноманіття, досліджуваній території слід надати статусу природоохоронної.

Максимів С., Драч Ю., Мамчур З.

ЕПІЛІТНІ МОХОПОДІБНІ ЛІСОПАРКУ «ПОГУЛЯНКА» (М. ЛЬВІВ)

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: maksumiv_c@ukr.net

Maksymiv S., Drach Y., Mamchur Z. THE EPILITHIC BRYOPHYTES IN THE FOREST-PARK "POHULYANKA" (LVIV). We have established the species composition of the epilithic bryophytes in the forest-park "Pohulyanka" of 34 species, 22 genera, 10 families and 6 orders of Bryophyta. Bryophytes grow on the natural stones, but they also colonize all possible artificial origin substrates. There is a predominance of facultative epilithic that typically settle on the stony substrates (natural and artificial) and other (soil, bark of living trees, rotten wood). According to ecological spectrum a species, which chosen the moderately moist and partially shaded conditions prevail.

Мохоподібні в умовах урбоекосистем поселяються на різноманітних субстратах, у тому числі штучного походження. Для міста найхарактерніші шість типів субстратів: ґрунти, кора живих дерев, гнила деревина, кам'яністі субстрати, субстрати штучного походження та водне середовище. Відповідно виділено субстратні групи бріофітів: епігейні, епіфітні, епіксільні, епілітні, артифіціальні, водні.

Метою нашого дослідження було виявлення видового складу і екологічних особливостей бріофітів, а також аналіз заселених ними типів кам'янистих субстратів. Для цього дослідили власні збори, проведені упродовж 2014-2016 рр., а також колекції Гербарію Львівського університету імені Івана Франка (LW) і Гербарію ДПМ НАН України (LWS).

На основі проаналізованих даних (81 зразок) встановлено видовий склад епілітів із 34 видів, що належать до 22 родів, 10 родин і шести порядків відділу Bryophyta.

Виділено дві групи субстратів за походженням: природний (каміння, галька тощо) і штучного (фундамент, цемент, цегла, асфальт та ін.). З проаналізованих зразків епілітні мохоподібні ростуть на природних (26 видів, 32%), але колонізують всі можливі подібні субстрати штучного походження (55 видів, 68%). Таким чином, спектр кам'янистих субстратів, придатних для поселення епілітних видів, розширює можливість для життєвого простору бріофітів.

Серед епілітів лісопарку «Погулянка» незначний відсоток облигатних видів, які ростуть виключно на кам'янистих субстратах – 26,5%, значно більша кількість факультативних – 73,5%. Останні можуть селитися на двох типах субстратів (наприклад каміння і ґрунт, каміння і кора дерева тощо) – 28% або на трьох і більше – 72%.

Разом із субстратною приналежністю для бріофітів є важливими умови мікроклімату, а саме режими зволоження, освітлення і температури.

За вимогами до вологості серед епілітних бріофітів лісопарку виділено такі групи: мезофіти (9 видів, 26,5%), ксеромезофіти (7 видів, 20,6%), ультраксерофіти (5 видів, 14,7%), гігрофіти (5 видів, 14,7%), ксерофіти (4 види, 11,8%), гігромезофіти (3 види, 8,8%), гігروهідрофіти (1 вид, 2,9%). За вимогами до освітлення: гемісціофіти (16 видів, 47%), субгеліофіти (9 видів, 26,5%), ультрагеліофіти (4 види, 11,8%), геліофіти (4 види, 11,8%), сціофіти (1 вид, 2,9%). Щодо температурного режиму переважають холодолюбні (12 видів, 35,3%), а також наявні помірнотеплолюбні (10 видів, 29,4%), 1 вид є морозотолерантний (2,9%), решту є індиферентними стосовно температурних умов, або ж з невизначеними ознаками (11 видів, 32,4%).

Таким чином, для епілітних бріофітів лісопарку «Погулянка» властиве переважання факультативних епілітів, які, зазвичай, окрім кам'янистих (як природного, так і штучного походження), поселяються на інших субстратах (грунт, кора живих дерев, гнила деревина). Серед них переважають види помірно зволжених і частково затінених умов.

Марущак О., Оскірко О., Василюк О.

ПЕРСПЕКТИВНИЙ ОБ'ЄКТ СМАРАГДОВОЇ МЕРЕЖІ В УКРАЇНІ: ДОЛИНА ХОРОЛУ

^{1,2} - ННЦ «Інституту біології та медицини»

Київського національного університету імені Тараса Шевченка

¹e-mail: saha1236@mail.ru ²e-mail: vse_okei@bigmir.net

³ - Інституту зоології імені І.І.Шмальгаузена

³e-mail: vasyliuk@gmail.com

Marushchak O.¹ Oskyrko O.², Vasyliuk O.³ PERSPECTIVE OBJECT OF EMERALD NETWORK IN UKRAINE: KHOROL RIVER VALLEY. Today one of the most promising areas of development and restructuring of Nature Reserve Fund of Ukraine in accordance to European standards is the creation and expansion of the so-called Emerald Network. This paper highlights some of the causes by which Khorol river valley is a perspective object of a complex designed Emerald Network and contains explanations for its implementation processes in Ukraine.

Сьогодні одним із найперспективніших напрямків розвитку структури природно-заповідного фонду в Україні відповідно до європейських стандартів є створення та розширення так званої Смарагдової мережі (Emerald Network, CM). CM – це новітня мережа природоохоронних територій, які представляють особливу цінність для збереження природних оселищ та біорізноманіття (Areas of special conservation interest – ASCI). Базою для створення CM є Бернська конвенція 1979 про дикі види фауни та флори у Європі та державах-спостерігачах, до яких належить, зокрема, Україна. Робота щодо розробки в Україні «смарагдових» об'єктів проводилася з 2009 року. Ключовими причинами для віднесення території до списку перспективних «смарагдових» об'єктів є наявність видів рослин і тварин зі списків Резолюції № 6 (1998) та оселищ, з якими найчастіше пов'язане існування видів та біоценозів, з Резолюції № 4 (1996) Бернської конвенції. В Україні наразі триває процес включення багатьох об'єктів до Смарагдової мережі та дослідження нових перспективних масивів, особливо долин великих річок. Активну участь у створенні смарагдових об'єктів беруть і громадські неурядові організації (NGO), слово яких є вагомим при затвердженні CM [Спінова, Василюк 2016].

Річка Хорол є правою притокою Псла, протікає в Сумській та Полтавській області (в останній – 241 км). Тече переважно на південь, між містами Миргородом і Хоролом — на південний захід, далі — на південний схід. Впадає до Псла на північній околиці села Попів-

ки. Долина характеризується переважанням заболочених ділянок, порослих чагарниками та подекуди лісами [Гомля, 2004]. В ході аналізу літературних джерел, що були опубліковані за останні 20 років, виявлено, що цей регіон річки Хорол є малодослідженим в останні роки, тому має місце брак актуальних даних. Вдалося виявити задокументовані факти, що підтверджують мешкання тут емеральдівських видів рептилій та амфібій: черепаха болотяна (*Emys orbicularis* Linnaeus 1758), кумка червоночерева (*Bombina bombina* Linnaeus 1761) та тритон гребінчастий (*Triturus cristatus* Laurenti 1768). Неодноразово вдовж долини річки відмічались поселення бобра європейського (*Castor fiber* Linnaeus 1758), а серед емеральдівських видів птахів трапляв кібчик (*Falco vespertinus* Linnaeus 1766) [Токарський, 2012, Акімов, 2009, Грищенко, Яблонівська-Грищенко, 2013]. Також тут трапляються оселища з емеральдівських переліків, утворені сальвінією плаваючою [Гомля, 2004].

У поєднанні з природними ландшафтними комплексами, наявність видів тварин з емеральдівських списків дозволяє внести пропозицію про включення долини річки Хорол, як об'єкта Смарагдової мережі. Варто також зазначити, що через брак даних щодо складу біоценозів долини Хоролу, існує необхідність проведення польових фауністичних досліджень з метою уточнення більшої кількості емеральдівських видів рослин та тварин на цих територіях.

Мекіч М., Буньо Л., Терек О.

**ТРИФАКТОРНИЙ ДИСПЕРСІЙНИЙ АНАЛІЗ ВПЛИВУ НАФТОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ
ГРУНТУ ТА ФІТОРЕКУЛЬТИВАЦІЇ НА ОЗНАКИ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ**

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
E-mail: Horon.Marta@gmail.com

Mekich M., Bunjo L., Terek O. THREE WAY ANALYSIS OF VARIANCE OF SOIL OIL POLLUTION AND PHYREMEDIATION EFFECTS ON BIOLOGICAL ACTIVITY. The effect size is used for evaluating practical significance of results, magnitude of the effect and the the relationship between variables. The contribution of oil, plants and time of oil degradation on biological activity of soil was studied. Results indicated strong effect size of oil presence in soil on variability of soil respiration (η^2 partial 0.88). The variability of microbial biomass was effected mainly by oil, plants and time of oil degradation (η^2 partial 0.47, 0.52, 0.58 respectively).

На сьогодні актуальним є пошук інформативних критеріїв оцінки ефективності та практичної значущості результатів фіторекультивациї. Рекомендується поряд із значеннями статистичної значущості впливу досліджуваного фактора наводити значення частки впливу фактора (effect size, η^2), що вказує на практичну значущість результатів. Частка впливу показує, яка частина мінливості ознаки залежить від досліджуваного фактора відносно загальної мінливості (врахованої та неврахованої) [Nakagawa, 2007]. Метою роботи було оцінити частку впливу нафти, рослин, терміну деструкції нафти на показники біологічної активності ґрунту – інтенсивність “дихання” ґрунту та біомасу мікроорганізмів у ґрунті.

Нами було закладено дрібноділянковий дослід у польових умовах (м. Судова Вишня). Розмір ділянки $1 \times 0,5 \times 0,25$ м³ у 2 повторностях. Ґрунт (вологість 13,4%) перемішували з нафтою (50 г/кг ґрунту). Контролем служив ґрунт без внесення нафти і без рослин. На 22-гу добу після внесення нафти висівали насіння рослин кукурудзи (*Zea mays* L) та бобу (*Vicia faba* L) у ґрунт без нафти та нафтозабруднений. Проби ґрунту відбирали на глибині 3-7 см із прикореневої зони рослин та із ділянок без рослин на 10, 22 (висівання насіння), 30, 65 (4 тижні вегетації рослин) та 95 (8 тижнів вегетації рослин) добу після внесення нафти. Зразки ґрунту готували відповідно до методики аналізу [Минеев и др., 2001]. Визначали інтенсивність “дихання” ґрунту (ІД) та біомасу ґрунтової мікробіоти (БІМ) [Bloem, 2005].

Для порівняння впливу досліджуваних факторів було проведено трифакторний дисперсійний аналіз з обчисленням їх часток впливу за стандартними формулами [Brown, 2008].

ІД та МБ є важливими індикаторами якості ґрунту та є чутливими до нафтового забруднення [Bloem, 2005; Riffaldi et al., 2006]. Нами встановлено стимулюючий вплив рослин та нафти на ІД. Між факторами "нафта" та "рослини" показано ефект взаємодії ($p < 0.02$). Стимулюючий вплив нафти очевидно пов'язаний із великою кількістю легкодоступного джерела карбону у вигляді нафтових вуглеводнів, тоді як вклад рослин може полягати в оптимізації умов життєдіяльності мікроорганізмів через кореневі виділення, покращення водо- та повітропроникності ґрунту [Chaineau et al., 2000]. Встановлено частки впливу досліджуваних факторів на мінливість ознаки ІД: нафта – 0.88, рослини – 0.37, взаємодія факторів нафта-рослини – 0.38, інші досліджувані фактори та взаємодії – 0.24.

БГМ зростала за впливу таких факторів, як нафта, рослини і термін деструкції. Встановлено взаємодію між факторами рослин та термін деструкції ($p < 0.01$), тоді як не показано статистичної значущості взаємодії між факторами нафта та рослини ($p < 0.09$). На мінливість ознаки мікробної біомаси частки впливу факторів були наступними: термін деструкції – 0.58, рослини – 0.52, нафта – 0.47, взаємодія факторів термін деструкції та рослини – 0.15, взаємодія факторів термін деструкції, рослини та нафта – 0.12, взаємодія факторів нафта та рослини – 0.09, взаємодія факторів термін деструкції і нафта – 0.03.

Отже, мінливість ознаки ІД найбільше залежить від впливу нафти, тоді як МБ – приблизно однаково від усіх трьох факторів. Отримані частки впливу факторів свідчать про доцільність використання досліджуваних ознак для індикації стану нафтозабруднених ґрунтів у процесі фіторекультивациі.

Мотигіна В. С., Тимченко І. В.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКОЛОГІЧНИХ РИЗИКІВ ЕКОСИСТЕМИ ПІВНІЧНОГО ПРИЧОРНОМОР'Я В УМОВАХ ІНТЕНСИВНОГО СУДНОПЛАВСТВА

*Національний університет кораблебудування імені адмірала Макарова
проспект Героїв України, 9, м. Миколаїв, 54025, Україна*

Motyhina V. S., Tymchenko I. V. RESEARCH OF ENVIRONMENTAL RISKS ECOSYSTEM NORTHERN BLACK SEA COAST IN HEAVY SHIPPING. Formed a comprehensive evaluation criterion of ecological and economic risks ecosystem Northern Black Sea strategy for the formation of environmental safety. Considered the main threats and risks identified waters and ecological and economic losses.

Постійна робота морських портів та пов'язане з тим активне та інтенсивне судноплавство в морських акваторіях, зокрема в Чорному морі, призводить до утворення екологічних загроз та ризиків, що ставлять під загрозу стан флори та фауни морського середовища та екосистеми Причорномор'я в цілому.

Особливістю природи Північного Причорномор'я є його багатство на біологічні ресурси, що сприяє розвитку харчової промисловості, високий рекреаційний та природоохоронний потенціал території, зокрема прилеглість таких заповідних об'єктів як Чорноморський біосферний заповідник, Національний природний парк «Білобережжя Святослава», регіональний ландшафтний парк «Тілігульський». Все це обумовлює важливість та актуальність наукових досліджень, пов'язаних з зменшенням антропогенного впливу.

Метою роботи є формування комплексного критерію оцінки еколого-економічних ризиків екосистемі Північного Причорномор'я для формування стратегії екологічної безпеки.

Серед головних загроз акваторії можна виділити забруднення акваторії внаслідок скиду стічних вод, сільськогосподарських стоків, а також інтенсивного судноплавства. Виділено наступні екологічні ризики: аварії морських суден (зіткнення, посадка на мілину,

пожежі), серед яких найбільш небезпечними є аварії зі загрозою викиду (скиду) хімічно небезпечних речовин і біологічних небезпечних засобів, аварії з загрозою викиду (скиду) радіоактивних речовин, аварії при перевантаженні небезпечних вантажів через портові комплекси, на рейдах; несанкціоновані скиди з суден; несанкціоновані скиди стічних вод.

Для формування критерію оцінки ризиків визначено та математично описано наступні очікувані еколого-економічні збитки:

- збитки, завдані рибному господарству (втрати потомства, загибель кормових організмів, втрати нерестовищ);
- збитки, пов'язані з втратами природно-заповідного фонду;
- збитки, пов'язані з погіршенням рекреаційних функцій досліджуваних ділянок.
- витрати на ліквідацію надзвичайної ситуації (НС) (витрати на проведення екологічної експертизи; витрати на створення експертної комісії для оцінки наслідків; витрати на проведення рятувальних та невідкладних робіт щодо ліквідації НС; витрати на відтворення екологічної рівноваги морських екосистем);
- витрати на запобігання НС (витрати на створення технічної бази для запобігання НС; витрати на модернізацію та екологізацію технологічних процесів; витрати на модернізацію допоміжного суднового флоту портів; витрати на створення та впровадження сучасних видів навігаційного обладнання і технічного зв'язку; витрати на розробку геоінформаційних систем та баз даних).
- витрати на відновлення водних ресурсів.

Аналіз екологічних ризиків та формування критерію їх оцінки дозволить не лише сформулювати загальну стратегію екологічної безпеки, а і оптимізувати природоохоронні рішення, етапи їх впровадження з урахуванням еколого-економічної ефективності.

Пилипів Ю., Савицька О.

ЯКІСТЬ ВОДИ ПАРКОВИХ ВОДОЙМ М. ЛЬВОВА

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: yur.pilipiv@gmail.com*

Pylypiv Y., Savitska O. WATER QUALITY IN THE PONDS AND LAKES OF THE PARKS IN LVIV CITY. Bioindication is one of the methods of environment objects monitoring. It allows to determine environmental conditions of these objects using living organisms. Nowadays a high level of anthropogenic pressure on ponds and lakes occurs in Lviv. Aiming to test this, we examined the hydrobiological samples from lakes and ponds located in three largest parks of the city. Goodnight-Whitley (GW) and Mayer (M) indices were calculated. It was shown that city lakes and ponds were inhabited mostly by living organisms that can live in highly polluted waters.

Водойми Львова, розташовані в межах міських парків, зазнають забруднень внаслідок активного рекреаційного використання. Метою досліджень було з'ясувати якість води паркових водойм міста у передрекреаційний період, послуговуючись їх біоіндикаційними характеристиками.

Упродовж зимово-весняного періоду 2016 р. досліджували якість води у водоймах трьох найбільших парків Львова – ставку в «Стрийському парку» і озерах у парках «Горіховий Гай» та «Піскові Озера». Проби бентосу (n=24) відбирали у трьох типових локалітетах обраних водойм та опрацьовували згідно загальноприйнятих гідроекологічних методик. Визначали показники індексів Гуднайт-Уітлі та Майєра, згідно яких оцінювали якість води.

Таксономічне різноманіття бентосу досліджених водойм у цей період включало представників ракоподібних (Cyclopidae), комах (Chironomidae, Ephemeroptera, Coleoptera, Ceratopogonidae), черв'яків (Oligochaeta, Hirudinea, Nematoda) та молюсків (Gastropoda). Най-

частіше у пробах з усіх водойм траплялися представники Chironomidae та Oligochaeta. Більше видове різноманіття бентосу спостерігалось у весняний період, що зумовлено підвищенням температур і початком вегетаційного періоду. Представники роду Ephemeroptera, які є індикаторами чистих вод, були виявлені лише у пробах озер парку «Піскові Озера» у весняний період.

Обчислення індексу Гуднайта-Уїтлі показало, що навесні в усіх досліджених водоймах закономірно збільшується чисельність олігохет (частка червів у пробах сягала 60-80%). На відміну від водотоків міста, цей показник для паркових гідроекосистем доволі помірний, оскільки рівень антропогенного навантаження у них обмежується зазвичай рекреаційним впливом, у той час, як у всі ріки Львова, особливо навесні, потрапляє значна кількість органічних речовин промислового та сільськогосподарського походження.

У той же час, результати індексу Майєра засвідчили, що озера та ставки міста наеляють переважно мешканці сильно забруднених вод (Chironomidae, Oligochaeta та Ceratopogonidae). Високим рівнем видової різноманітності гідробіонтів характеризуються водойми у парку «Піскові Озера». Практично усі мешканці чистих вод були знайдені у пробах саме звідти (Ephemeroptera та Gastropoda).

Таким чином, вода у паркових водоймах Львова у досліджений період перебувала у незадовільному екологічному стані. Показники біотичних індексів засвідчили, що особливо забрудненими у Львові є ставки «Стрийського парку» та озера парку «Горіховий Гай». Згідно з видовим різноманіттям та чисельністю олігохет навесні, найчистішими виявились озера парку «Піскові Озера». Таким чином, саме водні екосистеми цього парку зазнають найнижчого рівня антропогенного впливу.

Процишин А., Цвілинюк О.

ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ ТА РОЗМНОЖЕННЯ ЛАВАНДИ ВУЗЬКОЛИСТОЇ (*LAVANDULA ANGUSTIFOLIA* MILL.) У БОТАНІЧНОМУ САДУ ЛЬВІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: vugodadzvinka@gmail.com

Protsyshyn A., Tsvilynyuk O. FEATURES OF DEVELOPMENT AND REPRODUCTION *LAVANDULA ANGUSTIFOLIA* MILL. IN BOTANICAL GARDEN OF LVIV NATIONAL IVAN FRANKO UNIVERSITY. *Lavandula angustifolia* Mill is an evergreen perennial shrub. Native grow in the western Mediterranean. Industrially grown as a medicinal plant, honey plant, not demanding to soil fertility. Reproduction and phonological observations conducted in a botanical garden of Lviv national university 2015-2016 years. *L. angustifolia* tolerates winter, blooms over a month, well propagated by cuttings in the current climate conditions Lviv.

Лаванда вузьколиста (*Lavandula angustifolia* Mill.) це багаторічний вічнозелений напівкущ заввишки 60-75 см і численними розгалуженими стеблами.

Вид походить із Середземномор'я, де може досягати до 1,8 м у висоту. Промислово вирощується як лікарська сировина, медонос, ефективна протиерозійна рослина, яка не вибаглива до родючості ґрунту [Adgaba et al., 2015].

Вирощування лаванди в кліматичних умовах м. Львів ще у 80-90-их рр. ХХ ст. було неможливим – рослина взимку вимерзала. У колекції лікарських рослин, що у Ботанічному саду ЛНУ ім. І. Франка, лаванда росте з початку ХХІ ст. Фенологічні спостереження 2015-2016 рр., які були особливо спекотними, показали, що початок вегетації рослин розпочався в середині березня і тривав близько 85 днів. Цвітіння розпочалось у першій половині червня, тривало протягом 30-35 днів. Період цвітіння був коротший майже удвічі порівнянно з фенологічними даними, отриманими у м. Івано-Франківськ (2006-2008 рр.), який знахо-

диться в подібних до Львова кліматичних умовах [Т.М. Куцела, О.Я. Куцела, 2008]. Це теж може свідчити про зміни клімату.

Вегетативне розмноження лаванди здійснювали живцюванням восени, яке проводилось за методикою М.Т. Тарасенка (1991 р.). Однорічні здерев'янілі живці нарізали довжиною 10-15 см, розділяли на три частини. Одну частину живців замочували протягом доби у розчині корневину (згідно з інструкцією), другу – в соці *Aloe vera*, розведеного водою (10-15 мл концентрованого соку на 1 л води), третю – у воді (контроль). Після чого весь посадковий матеріал висаджували у відкритий ґрунт.

Відростання пагонів у живців за дії соку алое розпочалося 11 квітня 2016 року, у решти варіантів досліду – на 4 дні пізніше. Кількість вкорінених живців у всіх варіантах досліду була досить високою (80-90 %). Молоді рослини, що розвивалися з живців, настигаючи на соку алое, були вищими. У червні представники всіх трьох варіантів зацвіли.

Таким чином, у сучасних кліматичних умовах м. Львова рослини лаванди вузько-листої добре перезимовують, цвітуть більше місяця, дуже добре розмножуються осіннім живцюванням.

Сокирко О., Литвинчук Д.

ДО ЕКОЛОГІЧНОЇ ОЦІНКИ Р. КОНИК (М. КИЇВ)

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, хімічний факультет
вул. Льва Толстого, 12, Київ – 33 01033
sokyrko.olena@gmail.com*

Sokyrko O., Lytvynchuk D. TO ENVIRONMENTAL ASSESSMENT OF RIVER KONYK (KYIV). Analysis of chemical composition of natural waters provides information about the environmental state of ecosystems. In the research, Konyk River (Kyiv) samples of water and soil were analyzed for 25 chemical parameters for water and 10 - for soil. We made conclusions about ecological state of the object using the collected data.

Вода – один з основних компонентів будь-якої екосистеми. У наш час гостро стоїть проблема забруднення водних об'єктів прямим та непрямим шляхами. Аналіз складу природних вод та ґрунтів прилеглих територій дає змогу зробити висновки про екологічний стан об'єкту, особливо в межах сучасних мегаполісів. З метою моніторингу стану водних об'єктів м. Києва, щороку студентами I курсу магістратури кафедри аналітичної хімії Київського національного університету імені Тараса Шевченка під час проведення практичних занять зі спецкурсу «Екоаналітична хімія» та «Хімія еко- та біотоксикантів» виконуються аналізи різних водних об'єктів м. Києва та ґрунтів прилеглих до них територій. На основі отриманих даних складено екологічну карту Києва (<http://home.chem.univ.kiev.ua/sol/>).

Одним з об'єктів даної роботи була р. Коник (м. Київ, Голосіївський район, координати: 50.349262, 30.564683; дата відбору проби 8 вересня 2016 року) – досліджено основні індивідуальні показники хімічного складу води та ґрунту заплави. У результаті проведення аналізів було зроблено висновки про стан об'єкта за 25 основними параметрами води (загальна лужність, РСЗ, рН, електропровідність, тамчасова твердість, загальна твердість, постійна твердість, хімічне споживання кисню, вміст йонів Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , розчинений у воді кисень, розчинний Si, загальний, неорганічний, органічний фосфор, вміст йонів PO_4^{3-} та поліфосфатів, а також загальний, слабкозв'язаний та закомплексований Fe) та 10 параметрами ґрунту заплави (гігроскопічність, ВПП, вміст органічного вуглецю (гумусу), рухливі форми PO_4^{3-} , загальний вміст рухливих форм мангану в перерахунку на MnO_2 , загальний вміст рухливих форм алюмінію в перерахунку на Al_2O_3 , вміст Zn, Cu, Fe, Mn).

На основі отриманих даних встановлено: тип води - вода природна (поверхнева прісна, Ca-HCO_3^-); твердість води: вода належить до м'якого типу загальна мінералізація = 0,166 г/л; рН = 8,43; ХСК = 60 мг О/л; Σ катіонів = 3,58 ммоль-екв/л; Σ аніонів = 4,68 ммоль-екв/л; сумарний вміст іонів калію і натрію 1,1 ммоль-екв/л. Проведений аналіз води, відібраної вдень 8 вересня при температурі 25 °С з річки Коник, показав, що величини інтегральних показників води не перевищують ГДК України (ЄС, США), вода є безпечною та придатною для використання в господарсько-побутових цілях. При використанні такої води як питної її необхідно очищати та дезінфікувати за допомогою керамічних та/або вугільних фільтрів, кип'ятіння, а також обробки ультрафіолетовим світлом. Використання хлорування/озонування такої води не доцільне. Тип ґрунту заплави: чорнозем (середній вміст гумусу). Вміст рухомої форми алюмінію та мангану, фосфатів не перевищують середні значення для України. Сильно завищений вміст цинку (40,4 мг/кг, ГДК=23 мг/кг), феруму (11,5 мг/кг, ГДК=2,4 г/кг) та мангану (5,1 г/кг, ГДК=1,5 г/кг), пояснюється наявністю будівництв по берегах р. Коник. Результати проведеного аналізу досліджуваного ґрунту свідчать про недоцільність використання даного ґрунту в сільському господарстві.

Стасюк А., Савицька О.

ПОШИРЕННЯ ТА СУЧАСНИЙ СТАН КАШТАНОВОЇ МІНУЮЧОЇ МОЛІ
CAMERARIA OHRIDELLA DESCHKA & DIMIC
(LEPIDOPTERA: GRACILLARIIDAE) У М. ЛЬВОВІ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: Anchyk333@gmail.com

Stasiuk A., Savytska O. EXPANSION AND CURRENT STATE OF HORSE-CHESNUT LEAF MINER *CAMERARIA OHRIDELLA* DESCHKA & DIMIC (LEPIDOPTERA: GRACILLARIIDAE) IN LVIV. *Cameraria ohridella* is a dangerous invasive species which came to Ukraine in 1998 and from that time it has spread to all regions. *Cameraria ohridella* was first registered in Lviv in 2002, and every year an area of damaged leaves is increasing.

Cameraria ohridella – небезпечний інвазивний вид, що потрапив на територію України 1998 року і з того часу поширився у всіх її областях. З аналізу темпів поширення *Cameraria ohridella* в країнах Західної Європи та України зрозуміло, що на європейському континенті для неї є близькі до оптимальних абіотичні та біотичні чинники, що сприяють надзвичайно інтенсивному її розмноженню і поширенню територіями, де зростає гіркогоштан звичайний (*Aesculus hippocastanum* L.), що може призвести до загибелі цієї породи дерев.

В Україну *Cameraria ohridella* потрапила, перетнувши кордон з угорського боку. У 1998–2000 рр. на каштанах фіксувались лише окремі плями пошкодження листя (до 10%), з кожним роком площа пошкодження листя зростала і наприкінці серпня 2016-го року площа руйнування листя сягала 70-90 %. У Львові цей небезпечний вид виявили вперше у 2002 році. Найбільша кількість заражених каштановою мінуючою міллю дерев знаходиться обабіч великих автомагістралей, у тому числі біля київської траси, що підтверджує теорію про розселення молі в основному за допомогою транспортних засобів. Найінтенсивніше заражені рослини гіркогоштану звичайного у районах з найактивнішим трафіком. У Львові це проспекти Свободи та Шевченка; початок вулиці Шевченка, вулиці Варшавська, Єрошенка, Липинського, Медової Печери, Миколи Голубця, Пасічна. Найвищий показник зараження лісонасаджень каштановою мінуючою міллю спостерігається на вулицях Єрошенка та Миколи Голубця (90% та 70% відповідно). Великий вплив на заселення дерев шкідником чинить також загазованість, ущільнення та засолення ґрунту. До того ж, важли-

во зазначити, що окрім типового для каштанової мінуючої молі гіркогоштана звичайного, у Львові *Cameraria ohridella* заселила ще й тополі, липи та акації.

Аналіз показників ефективних температур показує, що в умовах міста Львова каштанова мінуюча міль має три повних покоління і частково четверте, гусениці якого не встигають розвинути і гинуть після перших заморозків. Однак протягом останніх десяти років у місті Львові спостерігається тенденція до підвищення температури в останній декаді вересня, що потенційно може сприяти розвитку четвертої генерації каштанової мінуючої молі, яка зазвичай не виживає через недостатню кількість теплих днів.

Для збереження каштанів у місті Львові вкрай необхідно розробити нові дієві заходи для боротьби з каштановою мінуючою міллю. Одним з дієвих засобів сьогодні є знищення листя каштанів, однак покращення стану дерев не спостерігається, а навпаки – інтенсифікується розмноження мінуючої молі. Успішний результат дають ін'єкції дерев різноманітними препаратами, проте вони є ефективними лише за умови системного використання, одночасного підживлення дерев та знищення листового опадів.

Утевський Ю.

ФОТОСИНТЕТИЧНІ ПІГМЕНТИ ЯК МАРКЕРИ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПРИМІТИВНИХ ҐРУНТІВ (НА ПРИКЛАДІ О. ГАЛІНДЕЗ)

*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
Майдан Свободи 4, Харків, 61022 Україна
e-mail: yurii.utevsky@gmail.com*

Utevskiy Yu. PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS AS MARKERS OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF PRIMITIVE SOILS (AS EXEMPLIFIED BY GALINDEZ I.). Antarctica is a continent almost entirely covered by glaciers. For a long-time period flora and fauna were tropical in their composition. The soils as a basis of the ecosystem, was destroyed during Carbon-Perm and Oligocene glaciations. Our work is dedicated to the study of chlorophyll content as a marker of biological activity in the soil leading to accumulation of primary organic matter. The presence of chlorophyll and carotenoids in all samples were detected. Chlorophyll concentration in the samples varied from 0.013 mg/g to 0,508 mg/g. The ratio of "chlorophyll/carotenoids" concentrations in different samples varied from 3/1 to 1/1. The identified ratio of "chlorophyll/carotenoids" indicates the photosynthetic processes in soils.

Антарктида – континент практично повністю вкритий льодовиками. Тривалий проміжок часу флора та фауна мали тропічний характер. Карбон-пермське та олігоценове зледеніння призвели до катастрофічного знищення тропічної антарктичної екосистеми та ґрунтів як її основи. У місцях, де відсутні льодовики, спостерігається ґрунтоутворення за рахунок накопичення кріодеструктивного матеріалу та органічної речовини. Найбільш потужні поклади ґрунтів досліджені в районі Dry Valley, та на відносно теплих субантарктичних островах. Представлену роботу присвячено дослідженню вмісту хлорофілу та каротиноїдів, як маркерів біологічної активності в ґрунтах, що призводить до накопичення первинної органічної речовини (www.antarctica.univer.kharkov.ua).

Матеріал зібрано сезонним біологічним загоном у лютому-березні 2016 року на о. Галіндез (УАС «Академік Вернадський»). Для кожної ділянки визначені координати та висота над рівнем моря. Товщина зразків не перевищувала 5 см. Зразки під час транспортування та зберігання перебували в герметичних контейнерах при температурі -20°C. Від кожного з восьми зразків відбиралось дві проби – з верхньої та нижньої половини. Кожна проба була розділена на дві половини, зважена та висušена при кімнатній температурі. Після висихання проби знов були зважені. Екстракція хлорофілу та каротиноїдів проводилась з використанням хлороформу при нагріванні до температури кипіння упродовж 40

хвилин. Вимірювання світлопоглинання розчинів для визначення загальної концентрації хлорофілу проводили при довжині хвилі 680–690 нм. Розрахунок концентрацій був проведений з використанням молярного коефіцієнту поглинання хлорофілу α . Показники вмісту каротиноїдів були отримані за результатами розділення смуг поглинання методом деконволюції, що базується на рівнянні Сіано-Неслера. При підбірці (методом деконволюції) брався до уваги спектр поглинання β -каротину. При обчисленні концентрацій каротиноїдів був використаний молярний коефіцієнт поглинання β -каротину. Вимірювання проводили на спектрофотометрі НІТАСНІ U-3210. Практично в усіх зразках було виявлено присутність хлорофілу та каротиноїдів. Концентрація хлорофілу в зразках змінювалась від 0,013 мг/г до 0,508 мг/г. У зразках, що були зібрані поблизу колонії пінгвінів, там де відбувається значне накопичення токсичних органічних речовин орнітогенного походження, не виявлено хлорофілу і каротиноїдів (зразок 25-16-2, див. www.antarctica.univer.kharkov.ua). Співвідношення концентрацій хлорофіл/каротиноїди в різних зразках та паралелях змінюється від 3/1 до майже 1/1. Зразки значно відрізняються один від одного за концентрацією хлорофілу та каротиноїдів у різних шарах, що свідчить про неоднорідність субстрату. Виявлені співвідношення «хлорофіл/каротиноїди» є маркерами фотосинтетичних процесів у досліджених ґрунтах.

Отже, формування ґрунтів відбувається як шляхом накопичення орнітогенних органічних речовин, кріодеструкції мохів та лишайників, так і за рахунок фотосинтетичних процесів у ґрунтах.

Чепець Т., Савицька О.

**ЕКОЛОГО-БІОЛОГІЧНІ ПЕРЕДУМОВИ ПОШИРЕННЯ КАШТАНОВОЇ
МІНУЮЧОЇ МОЛІ *CAMERARIA OHRIDELLA* DESCHKA & DIMIC (LEPIDOPTERA:
GRACILLARIIDAE) У М. ЛЬВОВІ**

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: tanya_chepets@ukr.net

Chepets T., Savytska O. ECOLOGICAL AND BIOLOGICAL PRECONDITIONS DISTRIBUTION OF HORSE-CHESTNUT LEAF MINER *CAMERARIA OHRIDELLA* DESCHKA & DIMIC (LEPIDOPTERA: GRACILLARIIDAE) IN LVIV. In recent decades, infiltration of alien species is acute problem. One example of this problem is rapidly spreading across Ukraine a new invasive species – *Cameraria ohridella*, which damages normal leaves Horse-Chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.). Urban green plantings of *Horse-Chestnut* lose their natural health and sanitary decorative value, wood reduces resistance to influence of exogenous stress factors. The emergence and rapid spread in Lviv of *Cameraria ohridella* poses a serious threat to *Aesculus hippocastanum*, potential danger to biodiversity in general.

В останні десятиріччя гостро постає проблема проникнення чужорідних видів. Одним з прикладів такої проблеми є стрімке поширення територією України нового інвазійного виду – мінуючої молі *Cameraria ohridella*, яка пошкоджує листя гіркогоштану звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.). З причин масового розмноження каштанової мінуючої молі міські зелені насадження гіркогоштанів втрачають природну санітарно-оздоровчу і декоративну цінність, зменшується стійкість дерева до впливу екзогенних стресових факторів. Поява та швидке поширення у Львові каштанової мінуючої молі становить серйозну загрозу гіркогоштану звичайному, потенційну небезпеку біорізноманіттю в цілому.

У Львові вид вперше зареєстровано у 2002 році. Найбільше ураження спостерігається у районах з найінтенсивнішим рухом транспорту (вулиці Пасічна, Медової Печери, Варшавська, Липинського, початок вулиці Шевченка, проспекти Свободи та Шевченка).

Станом на 2003 рік каштановою мінуючою мілью у Львові були заселені не лише рослини гіркогокаштану звичайного, а й тополі, липи та акації.

Зафіксовано календарні строки фенологічного розвитку генерацій каштанової молі впродовж вегетаційного періоду за 2016 р. Перший літ імаго припав на 26 травня.

Масовий аналіз популяції лялечок каштанового мінера з різних вулиць та паркових зон Львова дав змогу встановити, що кожену генерацію характеризує певна ефективна частина, яка формує весь життєвий потенціал молі. Для цього проводились визначення таких важливих параметрів як початок льоту, його тривалість та яйцекладка. Крім того, визначали рівень пошкодження листя каштанів, середні значення листків з відповідною кількістю лялечок каштанової мінуючої молі.

Встановлено, що ступінь пошкодження асиміляційної поверхні листя *Aesculus hippocastanum* L. залежав від екологічних та едафічних умов зростання дерев. Ступінь заселення дерев та шкодочинність листогриза на різних вулицях була різною. У 2016 р. явище мало вогнищеподібний характер. Теплі зими сприяють збереженню потомства та наростанню шкодочинності каштанової мінуючої молі.

Досліджено біотичний потенціал каштанової молі в межах м. Львів. Фітофаг розвивається у 3-х поколіннях, з можливим частковим наростанням чисельності.

Для збереження каштанів у місті Львові необхідний постійний моніторинг насаджень, своєчасне видалення хворих та всихаючих дерев, систематичне прибирання та знищення опалого листя, розміщення синічників на деревах, здійснення санітарно-оздоровчих, агротехнічних заходів. Додаткового вивчення потребують біологічні методи захисту (феромонні пастки для приваблювання та знищення метеликів під час спарювання та яйцекладки).

Шершова Н.

**ЛІХЕНОІНДИКАЦІЯ СТАНУ ПОВІТРЯНОГО СЕРЕДОВИЩА В М. ФАСТІВ
(КИЇВСЬКА ОБЛАСТЬ, УКРАЇНА)**

*Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного Національної академії наук України
вул. Терещенківська, 2, МСП-1, 01601, м. Київ, Україна
e-mail: nina.s.kiev@gmail.com*

SHERSHOVA N. LICHEN INDICATION OF AIR ENVIRONMENT STATE IN FASTIV (KYIV OBLAST, UKRAINE). Distribution of indicator species of lichens in Fastiv is investigated. Maps of zones of different levels of air pollution and distribution maps of indicator species of lichens are made. Relatively clean zone includes forests and other green areas. Generally air in Fastiv is moderately contaminated.

Забруднення атмосферного повітря є однією з найважливіших екологічних проблем в усьому світі в цілому і в Україні зокрема. Основними джерелами забруднення є промислові підприємства, автомобільний і залізничний транспорт, теплові електростанції. Для того, щоб забезпечити контроль над станом повітря, використовуються різні методи екологічного моніторингу. В останні роки застосування біоіндикаційних методів, заснованих на використанні живих організмів як індикаторів стану навколишнього середовища, стає все більш актуальним. Одним із пріоритетних біоіндикаційних методів є ліхеноіндикація.

Більшість таких досліджень в Україні проводилися в містах - обласних центрах, наприклад, в Києві і Львові. Досліджень в містах-супутниках обласних центрів досі не проводилося, хоча саме такі міста становлять особливий інтерес з наукової точки зору.

З метою вивчення видового складу індикаторних видів лишайників, особливостей їх поширення та частоти трапляння були проведені дослідження в м. Фастів (Київська область, Україна). Фастів є великим транспортним вузлом, в першу чергу залізничним.

Основу промисловості Фастова складають електротехнічні компанії і підприємства важкого машинобудування. На території міста також знаходиться багато промислових підприємств, які мають відношення до залізничного транспорту. Найбільшими з них є моторвагонне депо Південно-Західної залізниці та Український державний центр залізничних рефрижераторних перевезень «Укррефтранс».

Для обстеження був використаний маршрутний метод зі стороною 1 кв. км. Всього на території міста було закладено 33 пробних ділянки. В результаті польових досліджень і камеральної обробки зразків у Фастові виявлено 68 видів епіфітних лишайників. З них 19 видів є індикаторним. Також були визначені закономірності їх поширення.

Група видів-індикаторів кислотного і пилового забруднення в Фастові охоплює чотири види. Найбільше проективне покриття і частота трапляння цих лишайників спостерігається біля автомобільної дороги Біла Церква-Київ, залізничної гілки і безпосередньо біля промислових підприємств. Група лишайників, що мають високу чутливість до забруднення атмосферного повітря, налічує п'ять видів. У центральній частині міста ці лишайники практично не трапляються. Найвища частота трапляння цих індикаторів спостерігається в лісовому масиві, прилеглому до водосховища р. Унава. Лишайники із середньою чутливістю поширені більш широко. Ця група налічує десять видів. Їх поширення приурочено до зелених зон, таких, як лісовий масив біля водосховища, парк імені Юрія Гагаріна, Молодіжний парк та інші.

Результати досліджень показують, що в Фастові найзабрудненіші зони атмосферного повітря розташовані поблизу від скупчення промислових підприємств на півдні міста, залізничного вузла, регіональних автомобільних доріг з інтенсивним рухом автотранспорту і недостатньою кількістю зелених насаджень. Крім того, частина слабо забрудненої зони приурочена до знижених ділянок рельєфу (долина р. Унава). Незабруднені ділянки знаходяться в зелених масивах, які позитивно впливають на чистоту атмосферного повітря. Таким чином, територія м. Фастів в цілому є помірно забрудненою.

Шпак Я., Запісоцька І., Баранов В., Терек О.

**НЕЙТРАЛІЗАЦІЯ ФІТОТОКСИЧНОСТІ СУБСТРАТУ ПОРОДНИХ ВІДВАЛІВ
КАМ'ЯНОВУГІЛЬНИХ ШАХТ ПОПЕЛОМ ТЕС І ГУМАТОМ КАЛІЮ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна
e-mail: yaroslavcofizros@gmail.com*

Shpak Y., Zapisotska I., Baranov V., Terek O. NEUTRALIZATION OF SUBSTRATES' PHYTOTOXICITY OF COAL MINES' ROCK DUMPS BY FLY ASH FROM TPP AND POTASSIUM HUMATE. Studied effect of coal fly ash from Dobrotvir TPP and potassium humate 'ГКВ-45' produced by LLC 'PARK' (Ukraine, Lviv region) on phytotoxicity of coal mines wastes from rock dumps of Chervonograd mining region. For biotesting used Sudan grass *Sorghum bicolor* subsp. *drummondii* (Nees ex Steud.). Observed increasing of morphometric parameters' values with increasing content of chlorophyll *a* coupled with decreasing of pheophytin *a*' content that indicates reducing of stress effect on plants caused by phytotoxicity of substrates. Concluded that application of both studied ameliorants together neutralize phytotoxicity of substrates from coal mines' rock dumps more effective than application only one of them separately.

Породні відвали Червоноградського гірничопромислового району (ЧГПР) несприятливі для росту більшості рослин, оскільки мають низьке значення рН, високий вміст важких металів, провальну водопроникність і дефіцит поживних речовин [Баранов, 2008; Шпак, 2016]. Попіл із зольних відвалів кам'яновугільних ТЕС, забруднює довкілля через високі концентрації токсичних металів і металоїдів. Попіл з Добротвірської ТЕС еконо-

мічно доцільно використати для підвищення рН породних відвалів ЧПР завдяки незначній відстані і непоганому транспортному сполученню між ними [Баранов, 2014]. Для зв'язування важких металів чи зменшення їхньої рухомості у забруднених ґрунтах і субстратах використовують гумати різного походження [Байдина, 1994; Perminova, 2006; Макеева, 2014]. Однак внесення лише гуматів не здатне суттєво знизити кислотність, тому метою роботи було біотестування здатності сумісного застосування кам'яновугільного попелу Добротвірської ТЕС і гумату калію «ГКВ-45» виробництва ТзОВ «ПАРК» (Україна, Львівська область) знижувати кислотність і фітотоксичність субстратів породних відвалів з використанням суданської трави *Sorghum bicolor* subsp. *drummondii* (Nees ex Steud.) в якості біотестера [Шпак, 2016].

Виявлено збільшення висоти стебла, площі листків, довжини і маси коренів за впливу додавання попелу до субстрату породних відвалів. Використання гумату збільшило лише площу листків і масу коренів. Внесення попелу і гумату достовірно підвищило значення всіх досліджених морфометричних параметрів, а вплив на масу коренів виявився ефективнішим, ніж застосування лише попелу. З'ясовано, що додавання гумату підвищує вмісту хлорофілу *a* у листках. За додавання попелу і гумату з попелом виявлено підвищення вмісту хлорофілу *a* з одночасним зниженням вмісту феофітину *a*. Збільшення значень морфометричних параметрів суданської трави [Бешлей, 2015; Фіро, 2015], підвищення вмісту хлорофілу *a* разом зі зниженням вмісту феофітину *a* є ознаками зменшення стресу для рослин [Nath, 2008; Olivera, 2012; Singh, 2014], спричиненого фітотоксичністю.

Отже, застосування кам'яновугільного попелу ТЕС разом з гуматом калію «ГКВ-45» для зниження фітотоксичності породних відвалів ефективніше, ніж тільки одного з меліорантів.

Panko A., Kryuk D., Zhukava H.

SIZE STRUCTURE OF *DREISSENA POLYMORPHA* IN THE NAROCH LAKE

The Faculty of Biology, Belarusian State University

Nezavisimosti Ave., 4, BSU, The Faculty of Biology, 220030, Minsk, Belarus

darkpankar@gmail.com

The studies have been carried out in the Naroch Lake on the premises of the Educational and Research Centre «Naroch Biological Station named after G.G. Vinberg» in July 2016. *Dreissena polymorpha* samples were taken by hands (by divers at big depths) from six different sites, 0,25 m² at each site. At all investigated sites dense *Chara sp.* thickets served the main substrate for zebra mussel development. Sizes of mollusks (length, width, height) were measured by calipers.

Measurement results showed that mollusks of shallow water samples have the biggest average length and most variable sizes. Least size variation and the smallest mollusks were observed at site S2 (table 1). This site also had the highest density of zebra mussels among the examined in this work. The sizes of mollusks gathered at depths more than 3 m appeared to increase, compared to those in the samples collected at depths close to 2 m.

Table 1 – Linear sizes of *Dreissena polymorpha* in the Naroch Lake

Site	Depth, m	Sample size, ind.	Length, mm	Width, mm	Height, mm
SL6	0,5	281	14,27±4,25 (6,4–26,6)	6,56±1,98 (3–13,6)	6,81±2,29 (2,7–13,9)
SL1	0,5	365	15,68±3,16 (10,6–26,9)	7,67±1,39 (4,7–12,5)	8,02±1,84 (4,6–15,4)
S21	1,7	359	9,93±2,91 (3,96–21)	4,94±1,39 (2,4–10,4)	4,55±1,63 (1,5–11)
S2	2,5	1357	7,88±1,71 (3,6–16,8)	4,17±0,86 (2–8,9)	3,36±0,87 (1,5–7,5)
S10	3,0	223	11,30±3,51 (4,6–20)	5,67±1,58 (2–9,3)	4,95±1,85 (1,6–10,7)
S17	4,6	218	11±2,47 (5,8–19,1)	5,62±1,19 (2,5–9,2)	4,9±1,22 (2,2–8,6)

Data are provided in "average ± SD (min – max)" format

Mollusks in each sample were then classified accordingly to their lengths in 5 mm increments. It is known, that *dreissena* grows permanently, so we can approximately estimate the age of the gathered individuals, knowing their length (table 2).

Table 2 – Distribution of *Dreissena polymorpha* by size groups in the Naroch Lake

Site	Depth, m	Share of mollusks in different size groups, %					
		≤ 5 mm	5,1-10 mm	10,1-15 mm	15,1-20 mm	20,1-25 mm	25,1-30 mm
SL6	0,5	0,0	11,7	58,0	16,4	12,1	1,8
SL1	0,5	0,0	0,0	47,1	43,8	6,3	2,7
S21	1,7	1,9	60,2	30,6	6,4	0,8	0,0
S2	2,5	2,1	88,7	8,8	0,4	0,0	0,0
S10	3,0	1,3	44,8	34,5	19,3	0,0	0,0
S17	4,6	0,0	38,5	53,2	8,3	0,0	0,0

In total, the examined samples mostly were represented by mollusks under the age of 3 years. The share of young individuals (less than 15 mm length) grows by a little with increasing depth, with maximum of 99,6 % at the site S2. Also, aged (15,1-30 mm) individuals, which can be seen at low-depth stations are absent at greater depths.

Parzych A.

NEEDLES OF *PINUS* SPECIES AS BIOINDICATORS OF THE ENVIRONMENTAL QUALITY

*Institute Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Słupsk
Arciszewskiego St. 22b, 76-200 Słupsk, Poland
e-mail: agnieszka.parzych@apsl.edu.pl*

The genus *Pinus* is one of the most widely spread in the northern hemisphere. There are 115 known species of trees and bush from the *Pinus* genus all over the world. For many years, these species have been the object of scientific research. In Poland and in many European countries 1 year old needles and 2 years old needles of *P. sylvestris* and *P. nigra* are used for evaluation of the level of air pollution [Świercz, 2003, Parzych, Sobisz, 2012, Parzych, Jonczak, 2014]. Tree needles absorb a series of chemical components necessary for supporting of vital process from the soil and the air. The chemical composition of the needles is characterized by a specific variability resulting from the age of the needles, a natural fertility of the habitat and the factors conditioning intake of the soil components.

The aim of the research was to compare the accumulative properties of the needles of *Pinus armandii* Franch., *Pinus banksiana* Lamb., *Pinus mugo* Turra, *Pinus nigra* J.F. Arn., *Pinus sylvestris* L. and *Pinus wallichiana* A.B. Jacks. in relation to Cu, Ni, Mn, Fe, Zn and Cd.

The research was done within the area of the forest at the University Botanic Garden (48°45' N, 21°19' E) in Košice (Slovakia). The tree stands grow in the shallow soils of *cambisol* type. 5 trees of each of 6 species of *Pinus* were earmarked for the study. In order to determine the metallic elements, the samples of the needles (0.5 g) were mineralized in the solutions of 65% HNO₃ and 30% H₂O₂ in order to obtain clear and colorless solution. The concentration of Zn, Cu, Ni, Mn, Fe and Cd in sampling determined by atomic absorption spectrometry. The metals were determined with the following wave lengths: 213.9 nm Zn, 324.8 nm Cu, 232.0 nm Ni, 279.5 nm Mn, 248.3 nm Fe and 228.8 nm Cd.

The examined soils were abundant at average level in basic microelements, contained small quantities of cadmium, and their availability for trees depended on the soil reaction. From among the tested species, the needles of *P. banksiana* was characterized by the highest level of acidity which had impact on the soil reaction under the three stand and on a higher accumulation of Fe and Mn in the needles. In most cases, higher level of content of those metals was determined in 2 years' old needles, except for Cu and Zn (*P. banksiana*) as well as Zn (*P. nigra*), in which case, higher concentration of metals in 1 year old needles was determined. This indicates a greater sensitivity the needles of these species to the Cu and Zn. From among the examined elements, Mn was accumulated in the largest volume in the needles of *P. banksiana*, Fe and Cu in the needles of *P. wallichiana*, Ni in the needles of *P. sylvestris*, Zn in the needles of *P. nigra*, and Cd in the needles of *P. armandii*. Chemical analyses of the needles of *P. armandii*, *P. sylvestris* and *P. wallichiana* indicate small pollution of the tested area with nickel and the needles of *P. armandii* and *P. banksiana* the increased content of cadmium.

**Wieczorek M.¹, Najbar B.¹, Burda E.¹, Nowacka-Chiari E.², Nowacki A.³,
Rektor R.⁴, Jerzak L.¹, Walińska K.^{1,4}**

VALORIZATION OF THE ENVIRONMENTAL CONDITIONS IN THE NOWOGRÓD
BOBRZAŃSKI MINE (POLAND) AND SOME ASPECTS OF THE BIODIVERSITY
MANAGEMENT

¹University of Zielona Góra, Faculty of Biological Sciences

1 Prof. Z. Szafrana St., 65-516 Zielona Góra, Poland

²University of Zielona Góra, Department of Physical Education

58 Wyspiańskiego St., 65-178 Zielona Góra, Poland

³Forest District Gubin, 19 Dolna St., 66-620 Gubin, Poland

⁴Kepler's Science Centre – Nature Centre in Zielona Góra

14 Gen. J. Dąbrowskiego St., 65-021 Zielona Góra, Poland

e-mail: kwalinska@gmail.com

A multi-step project realized in the Nowogród Bobrzański mine, relates to biodiversity management. The first phase of the research involved the determination of the current state of the environment in the mine, in particular biodiversity and biocenotic role of created habitats. In accordance with the premise, we've had mainly referred to the floristic analysis of the test site, determined the types of habitats and made assessment of prevalence of selected groups of vertebrates.

Floral analysis showed the presence of a total of 123 species of plants, including 23 species from a group of shrubs and trees, 85 species of meadow plants, 9 species of the family Poaceae and family Cyperaceae and 6 species of wet habitats. Among the identified plants, two species are legally protected: *Potentilla rupestris* L., located on the Red List of Plants and Fungi of Poland (2006), in endangered species group (category V) and *Frangula alnus* Mill., in Poland under a partial protection until 2014. Field observations carried out in parts of the South-East of the mine, showed the presence of two specimens of *Quercus robur* with monumental dimensions and approximately 100-year-old *Pseudotsuga menziesii* C.

Studies have shown a clear presence of rural elements - green countryside, in the form of an avenue consisting of 71 specimens of *Quercus rubra* L. Among them, seven specimens reached the circuit at diameter at breast height, in excess of 300 cm.

In mine and in the immediate vicinity there are over 20 types of habitats. The most representative habitats are: extraction lakes/reservoirs, post-extraction lakes, temporary small ponds, watercourse, reed beds, open grasslands, ruderal areas, sand and gravel heaps, open sandy habitat, mixed pine and and birch woodland, alley of northern red oaks and mixed oak woodland.

Analysis of the occurrence of selected vertebrate showed the presence of eight species of herpetofauna (four species of amphibians and four species of reptiles) and 126 breeding species of bird.

Specifying certain aspects of biodiversity has allowed for the development of the proposals relating to the protection of existing resources and activities to optimize habitat conditions. We propose that the valuable natural areas protect voids, giving these values a status of natural monuments, and on selected areas to impose a form of protection of the ecological use.

Within the framework of the research we have fulfilled a comprehensive assessment of the artificial islands in the post post-extraction tanks, which form the breeding sites and habitat for water birds. We propose to create artificial slopes on the banks of the salvage vessels that would allow for settlement by the *Riparia riparia* L.

We have proposed the creation of a database that will facilitate the execution of the natural adjustment in Spatial Information System. Based on consultation with the management of the mine, the authorities of the municipality and representatives of forestry, we suggested the separation of the three functional zones: recreational, partial protection and operational.

ЗООЛОГІЯ / ZOOLOGY

Бур'ян З. В., Трохимець В. М.

ЗООПЛАНКТОН ЗАКРИТИХ ВОДОЙМ КАНІВСЬКОГО ПРИРОДНОГО ЗАПОВІДНИКА

Київський національний університет імені Тараса Шевченка 01033, Київ-33
вул. Володимирська, 64, ННЦ «Інститут біології та медицини», кафедра екології та зоології
e-mail: ke7sha1991@gmail.com

Burian. Z.V., Trokhymets V.M. ZOOPLANKTON OF THE OFF-STREAM RESERVOIRS OF THE KANIV NATURE RESERVE. Results of the investigation of the zooplankton of the off-stream reservoirs of the Kaniv Nature Reservoir are presented. The research was conducted in summer 2015. As the results of research 12 zooplankton's species were established, also their density and biomass were analyzed.

Вплив антропогенного навантаження на водні екосистеми спричинює якісні та кількісні зміни в угрупованнях гідробіонтів. Дослідження закритих водних екосистем на території Канівського природного заповідника не проводили протягом останніх десяти років. Метою досліджень було з'ясування еколого-фауністичних особливостей зоопланктону в межах закритих водойм даної природоохоронної території.

Об'єкт дослідження – представники трьох основних груп зоопланктону: коловертки (клас Eurotatoria), гіллястовусі ракоподібні (клас Branchiopoda, ряд Cladocera), різні вікові стадії розвитку веслоногих ракоподібних (клас Copepoda), а також черепашкові ракоподібні (клас Ostracoda) та личинки двостулкових молюсків (клас Bivalvia). Матеріалом послугували проби зоопланктону, зібрані влітку 2015 р., в межах чотирьох дослідних водойм. Зарослий біотоп був представлений у межах трьох станцій, у водоймі № 2 не було відмічено ділянок з вищою водною рослинністю. Збір зоопланктону проводили за допомогою конічної сітки, а його аналіз на основі загальноприйнятих методик [Арсан, 2006; Кутикова, 1976; Мануйлова, 1964; Монченко, 1974].

Видовий склад зоопланктону чотирьох дослідних станцій був представлений 12 видами. Коловертки: *Brachionus quadridentatus quadridentatus* Hermann, 1783; *Euchlanis dilatata* Ehrenberg, 1832; *Lecane ohioensis* (Herrick, 1885). Гіллястовусі ракоподібні: *Ceriodaphnia pulchella* Sars, 1862; *Daphnia pulex* Leydig, 1860; *Simocephalus vetulus* (O. F. Müller, 1776). Веслоногі ракоподібні: *Acanthocyclops americanus* (Marsh, 1893); *Cyclops strenuus* Fischer, 1851; *Eucyclops denticulatus* (Graeter, 1903); *Eucyclops serrulatus* (Fischer, 1851); *Macrocyclus albidus* (Jurine, 1820); *Mesocyclops leuckarti* (Claus, 1857). Видове багатство зоопланктону кожної дослідженої водойми було бідним: № 1 (зарослий біотоп) – 2 види, № 2 (незарослий біотоп) – 3 види, № 3 (зарослий біотоп) – 7 видів, № 4 (зарослий біотоп) – 2 види.

Найвища щільність популяцій була відмічена у водоймі № 2 – 126000 екз./м³, нижчі показники було відзначено у водоймах № 4 – 52000 екз./м³, № 3 – 26600 екз./м³ та № 1 – 1280 екз./м³. Подібні тенденції спостерігались і за біомасою: № 2 – 5,316 г/м³, № 4 – 4,94 г/м³, № 3 – 0,778 г/м³, № 1 – 0,056 г/м³. Черепашкові ракоподібні у водоймі № 4 склали значну частку з щільності – 77% та біомаси – 80,6%.

**Високосова А., Серватовська Є., Чупракова В., Ковальчук А.,
Ковальчук Н., Рубленко К., Яцюк Є.**

ФАУНА ЛІСОВИХ НАЗЕМНИХ МОЛЮСКІВ ХАРКІВСЬКОГО ЛІСОПАРКУ

*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
майдан Свободи, 4, Харків, 61000, Україна
e-mail: alyonavys@yandex.ru*

**Vysokosova A., Servatovska L., Chuprakova V., Kovalchuk A., Kovalchuk N.,
Rublenko K., Yatsyuk E.** FAUNA OF TERRESTRIAL FOREST MOLLUSKS OF KHARKIV
FOREST PARK. This study was aimed to determine species composition of terrestrial forest mollusks of Kharkiv Forest Park, to find relationship between their distribution and some environmental factors, and to compare present data with mollusk fauna of three National parks located in the Kharkiv region. We collected 1351 specimens of 14 species with 4 species being rare for this territory. Mollusk fauna in National parks was richer because of less disturbed forests, and neighborhood of other habitats. We noted a slight tendency to increasing the number of species with increasing forest age, but no relationship between species diversity and relief.

Фауна наземних молюсків Харківської області в цілому досліджена слабо. Лише в останні роки вийшло кілька робіт по територіях трьох національних парків [Балашов, Битатов, Василюк, 2009; Балашов, Брусенцова, 2015; Балашов, Кривохижая, 2015]. Завданнями нашого дослідження було: визначити видовий склад лісових черепашкових наземних молюсків Харківського лісопарку; порівняти отримані дані з даними дослідження фауни молюсків у трьох національних парках Харківської області; визначити зв'язок видового складу молюсків з віком лісу та його рельєфом.

Збір матеріалу проводили у Харківському лісопарку, який є кленово-липовою дібровою, в теплий період року (з червня по жовтень) у 14 точках в різних частинах лісопарку. Були поєднані методи візуального збору наземних молюсків на місцевості та аналіз проб лісової підстилки у лабораторних умовах. Види визначали за допомогою визначників [Балашов, Лукашов, Сверлова, 2007; Стойко, Булавкіна, 2010].

Місця збору характеризували за двома показниками: вік лісу та рельєф. Дані середнього віку деревостанів отримували зі схеми лісонасаджень харківського лісопарку. Були виділені три категорії рельєфу – плакор, схили ярів, дно ярів.

У якості показника різноманіття ми використовували індекс Шеннона (H), а для аналізу зв'язку видового різноманіття з віком лісу ми використовували кореляційний аналіз (індекс Спірмена, R).

У результаті дослідження було зібрано 1351 екземпляр 14 видів ($H = 1,53$). Найбільш масовими були: *Aegopinella minor* (749 особин), *Cochlicopa lubricella* (102), *Cochlodina laminata* (146), *Fruticicola fruticum* (124) та *Euomphalia strigella* (113). Менш чисельними, але рівномірно поширеними були *Carychium tridentatum* (35), *Cochlicopa lubrica* (4), *Punctum pygmaeum* (15), *Vitrina pellucida* (43), *Helix pomatia* (16). Чотири види були знайдені лише в одному екземплярі, і є рідкісними на території Лісопарку: *Vertigo pusilla* (ділянка віком від 110 років на схилі яра), *Euconulus fulvus* (ділянка віком 90 років на дні яра, що межує з заболоченою лукою), *Discus ruderratus* (на дні яру у лісовій ділянці з віком від 100 років) та *Vertigo angustior* (знайдений на плакорі в лісовій ділянці віком від 180 років).

У дібровах трьох національних парків Харківської області було виявлено більше видів, ніж у лісопарку (близько 40 видів у кожному). Ліси на територіях національних парків загалом є краще збереженими, ніж у Лісопарку, з більшим середнім віком деревостанів, кількістю мертвої деревини та меншим антропогенним навантаженням.

Відзначено слабку тенденцію зростання чисельності видів зі збільшенням віку лісу ($R = 0,51$, $p = 0,16$), але не спостерігали кореляцію між видовим різноманіттям і рельєфом

($R = 0,38$, $p = 0,32$). Показник індексу Шеннона не пов'язаний з будь якою змінною. На видовий склад наземних молюсків лісопарку окрім антропогенних чинників можуть впливати й інші фактори: об'єм лісової підстилки, кількість мертвої деревини та особливості формування кожної ділянки.

Дубовик О.¹ Кузьо Г.²

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ ТОЧКОВИХ ОБЛІКІВ У ДОСЛІДЖЕННІ ЗИМОВОГО НАСЕЛЕННЯ ПТАХІВ УРБОЛАНДШАФТІВ

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

²Державний природознавчий музей Національної академії наук України
вул. Театральна, 18, м. Львів, 79008, Україна
e-mail: lxmoroz@gmail.com

Dubovyk O. Kuzyo H. POINT COUNT METHOD IN STUDYING OF WINTER BIRD ASSEMBLAGES OF URBANIZED BIOTOPES. Point count method allows researchers to increase sample size for more reliable statistic analysis in ornithological studyings. We used this method for describing and comparison winter bird assemblages' structure in parks and cemeteries biotopes in Lviv.

Загальноприйнятими методиками орнітологічних досліджень на теренах України є метод лінійних трансект [Бокотей, 1997] та метод абсолютних обліків орнітокомплексу певної модельної ділянки. В закордонній практиці, однак, для спрощення статистичної обробки отриманих даних, також використовують метод точкових обліків [Fancy, 1997; Donnelly, Marzluff, 2006].

У якості апробації такого методу для вивчення населення зимуючих птахів урбанізованих ландшафтів, нами досліджено структуру орнітокомплексів двох старих кладовищ, розташованих на території Львова: Личаківський цвинтар (3 точки) та Янівський цвинтар (2 точки), а для порівняння обрано топографічно найближчі до досліджених ділянок парки: Личаківський парк (4 точки) та парк "Кортумова гора" (2 точки). Обліки проводили в зимовий період з січня до лютого 2017 року.

У подібних дослідженнях вважають, що парки та кладовища представляють один тип урбанізованих біотопів [Бокотей, 1997]. Шляхом порівняння структури зимуючого населення птахів таких модельних ділянок, нами попередньо виявлено недоцільність такого методологічного поєднання даних типів біотопів.

В період досліджень виявлено 26 видів, з яких 7 - на всіх чотирьох досліджених ділянках (найпоширеніші синиця велика *Parus major* - 17-24%, повзик *Sitta europaea* - 5-16%); види, що реєструвалися на всіх ділянках, не виявляючи певних преференцій, здебільшого не домінують в структурі населення, за виключенням синиці великої. Натомість, чутливі до антропогенного тиску види, такі як яструб малий *Accipiter nisus*, канюк звичайний *Buteo buteo*, крук *Corvus corax*, виявляють преференції до кладовищ.

Видове багатство зимових орнітокомплексів досліджених територій за індексом Шеннона суттєво не різниться. Найбільш подібним є видовий склад орнітокомплексів Личаківського та Янівського цвинтарів (індекс подібності Соренсена $Q=0.750$), в той час як найвища подібність видового складу між різномірними ділянками виявлена у парі Личаківський цвинтар - Личаківський парк ($Q=0.687$), що пояснюється топографічною близькістю. Модифікований індекс Соренсена, що враховує чисельність видів, показує, однак, найвищу подібність між дослідженими орнітокомплексами в парі кладовищ ($Q_q=0.476$).

Для виявлення достовірніших закономірностей, результати, отримані за допомогою методу точкових обліків, вказують на необхідність подальших досліджень у гніздовий період та збільшення вибірки даних.

Зінковський А., Трохимець В.**МОРФО-БІОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ *NOTOTHENIA CORIICEPS* (RICHARDSON, 1844) З РАЙОНУ АРХІПЕЛАГУ АРГЕНТИНСЬКІ ОСТРОВИ (АНТАРКТИКА)**

ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету
імені Тараса Шевченка
проспект Академіка Глушкова, 2, м. Київ, 03022, Україна
e-mail: zinkovskiy.art@yandex.com

Zinkovskiy A., Trokhymets V. MORPHO-BIOLOGICAL ANALYSIS OF *NOTOTHENIA CORIICEPS* (RICHARDSON, 1844) IN THE ARGENTINE ISLANDS REGION (ANTARCTICA). This work is dedicated to the studying of characteristics of the dominant species of fish fauna from the Argentine Islands region. Morphometric analysis of two groups *Notothenia coriiceps* from the Meek Channel and near the west coast of Grotto Island is conducted. It is exposed, that these two groups of fish species divided on the different population. Phenological changes of the biological indexes (such as somatic indexes, the degree of the stomach fullness, the degree of maturity and the degree of fatness) are studied.

Широколоба нототенія *Notothenia coriiceps* (Richardson, 1844) належить до промислових видів риб, які видобувають в антарктичних водах. Представники даного виду домінують в іхтіоценозах поблизу архіпелагу Аргентинські острови. Матеріал, на основі якого проведено фенологічний і морфо-біологічний аналіз було зібрано під час 12 Української антарктичної експедиції (2007-2008 роки).

Морфометричний аналіз проводили для порівняння популяцій із двох місць вилову – районів протоки Мік і західного узбережжя острова Гротто. Для цього було зроблено дві вибірки по 34 особини, у яких було проаналізовано меристичні та пластичні ознаки. Порівнянням меристичних ознак не було виявлено значних відмінностей між двома вибірками. Порівнюючи пластичні ознаки за критерієм Стюдента встановлено значущу відмінність за 23-ма з 37-ми проаналізованих ознак. Отримані дані вказують на те, що дані вибірки належать до двох різних популяцій одного виду. Скоріш за все, це пов'язано з різними умовами існування: для протоки Мік характерна більша проточність води. Тому для популяції нототенії в акваторії протоки Мік характерні більші розміри тіла та довжина плавців. Порівнянням соматичних індексів двох популяцій значущих відмін не виявлено. Винятком був гепато-соматичний індекс, який становив $2,00 \pm 0,01$ і $1,60 \pm 0,02$.

Біологічний аналіз широколобої нототенії показав, що гепато-соматичний індекс ($1,94 \pm 0,04$) і серцево-соматичний індекс ($0,21 \pm 0,003$) протягом року майже не змінювались. Індекс наповнення шлунку також ледь відрізнявся від середнього значення ($1,23 \pm 0,14$), однак у квітні та грудні траплялися особини з показником 3 і вище. Протягом року більшість виловлених особин мали наповнення шлунку 0–1 бали (68,0%), траплялися представники зі ступенем наповнення 2–3 бали (30,0%) і лише окремим особинам у квітні було характерне наповнення кишечника 4 бали (2,0%). Серед вмісту шлунку найчастіше траплялися залишки риб (47,2%), ракоподібних (35,8%) і молюсків (13,2%). Жирність у більшості особин нототенії протягом року становила 2–3 бали, лише в кінці антарктичної осені (квітень–травень) та на початку літа (січень) траплялись представники з ступенем жирності 4 бали. Гонадо-соматичний індекс поступово змінювався з найменшого ($0,32 \pm 0,07$ у самців і $1,32 \pm 0,13$ у самок) до найбільшого ($1,39 \pm 0,22$ у самців і $2,97 \pm 0,87$ у самок) від кінця попереднього нересту (кінець травня – початок червня) до кінця року (січень). У травні було зареєстровано найбільшу кількість представників з нерестовою стадією зрілості. З жовтня до січня відбувалося поступове збільшення кількості особин на стадії зрілості III і IV.

Куриленко О. В.

**ВИНИКНЕННЯ САМЦЯ В КОЛОНІЇ ПАРТЕНОГЕНЕТИЧНИХ ГЕKKОНІВ
LEPIDODACTYLUS LUGUBRIS (DUMERIL, BIBRON, 1836)
(REPTILIA, SAURIA, GEKKONIDAE)**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка
ННЦ «Інститут біології та медицини»
вул. Володимирська 64, Київ 01601, Україна*

Kurilenko O. THE APPEARANCE OF MALE IN A COLONY OF PARTHENOGENETIC GECKOS *LEPIDODACTYLUS LUGUBRIS* (DUMERIL, BIBRON, 1836) (REPTILIA, SAURIA, GEKKONIDAE). The results of observing a colony of parthenogenetic geckos *Lepidodactylus lugubris* (Dumeril, Bibron, 1836) are presented in this work. The study shows that in the terrarium conditions the first appearance of male was noted in the 3rd generation of a population.

Партеногенетичні гекони *Lepidodactylus lugubris* - перспективний вид як модельний організм, що обумовлено простотою утримання та високою швидкістю репродукції. Існує припущення, що при генетичній нестабільності популяції в окремих групах виникають самці.

Метою даної роботи було виявлення появи самця в групі партеногенетичних особин самиць. Перші отримані 10 особин були поміщені в вертикальний тераріум з параметрами 30\30\45 см. Робочий об'єм був щільно засаджений рослинністю роду *Cryptanthus* та *Ficus rumila*, світловий день встановлений тривалістю 12 годин. Годування проводили 2 рази на тиждень дрібними безхребетними та сумішами Repashy superfoods. Оптимальною температурою для утримання та розведення було встановлено в діапазоні 22°C вночі та 24-26°C вдень. За таких умов досліджували 3 покоління геконів.

Репродуктивними самиці стають при досягненні розміру від 80 мм і починають відкладати кладки від 1 до 2 яєць, кожне розміром 4 на 6 мм. Проміжок між кладками становить 30-60 діб. Інкубація триває 70-90 діб. Розмір молоді становить 39-43 мм.

Цьому виду притаманна виражена територіальна поведінка. Кожна доросла особина займає свою невелику особисту ділянку в тераріумі, де демонстративною поведінкою вказую на територіальні межі. Було зафіксовано поведінку однієї особини, що нагадувала поведінку самця. При детальному спостереженні помічені вдалі спроби цієї особини копулювати з самицями. Цей екземпляр був відловлений та досліджений. Під час детального огляду в нього виявлено копулятивні органи. При дослідженні інших дорослих особин популяції самців не було виявлено.

Дані спостереження доводять можливість виникнення чоловічих особин в партеногенетичних популяціях *Lepidodactylus lugubris* при тривалому чергуванні партеногенетичних поколінь. В нашому випадку ця поява була зафіксована в 3 поколінні. Це може бути проявом однієї з екологічних адаптацій цього виду.

Луцька М., Сіренко А. Г.

**ЕКОЛОГО-МОРФОЛОГІЧНИЙ РОЗПОДІЛ ЖУКІВ-СТАФІЛІНІД
У ЛІСОВИХ ЕКОСИСТЕМАХ ПІВНІЧНОГО МАКРОСХИЛУ
УКРАЇНСЬКИХ КАРПАТ І ПЕРЕДКАРПАТТЯ**

*Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника
вул. Галицька, 201, Івано-Франківськ, 76000, Україна
e-mail: mariana.93.if@ukr.net*

Lutska M., Sirenko A. ECOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL DISTRIBUTION ROVE BEETLES IN FOREST ECOSYSTEMS OF THE NORTH SLOPE OF THE UKRAINIAN CARPATHIANS. Long-term studies beetles stafilinid various forest habitats northern slope of the Ukrainian Carpathians, and Precarpathia. This paper presents a summary of the division of ecological and morphological groups Rove Beetles in various habitats.

Родина Стафілінід (Staphylinidae, Coleoptera) - одна з найбільших родин твердокрилих. Світова фауна налічує понад 56 440 видів, що належать до 31 підродини. Вони посідають друге місце в світовій фауні за чисельністю видів серед твердокрилих після Curculionidae. Представники стафілінід поширені у найрізноманітніших субстратах: ґрунті, лісовій підстилці, посліди диких та домашніх тварин, рослинних та тваринних залишках, плодівих тілах грибів, водоростях. Коротконадкрилі жуки належать до наступних трофічних груп: хижаків, міцетофагів, сапрофагів, некрофагів, нематофагів, фітофагів.

Дослідження проводили у 7 біотопах Українських Карпат та Передкарпаття у продовж тривалого часу (2001 – 2016 рр.). Стаціонари розташовані на різних висотах від 250 до 1800 м над рівнем моря. Збір матеріалу проводився методами ручного збору, просівання лісової підстилки, піретричним затуманенням.

На території Прикарпаття знайдено 56 видів стафілінід, які належать до 9 підродин, а саме: *Staphylinidae* – 26 видів, *Oxytelinae* – 10 видів, *Paederinae* – 4 види, *Tachyporinae* – 4 види, *Xantholininae* – 4 види, *Steninae* – 4 види, *Oxyporinae* 1 вид, *Oliaesterinae* – 1 вид, *Omalinae* – 1 вид.

У підстилці криволісся сосни альпійської на висотах 1200 - 1800 м над рівнем моря нами виявлено: 42% видів - епібіонтів бігаючих, 33% видів - криптобіонтів бігаючих, 8% видів - свердловинників ріючих, 8% видів - свердловинників бігаючих, 8% видів - свердловинників нірників.

У лісі сосни кедрової європейської на висотах 1300 - 1500 м над рівнем моря нами виявлено: епібіонтів бігаючих – 38% , криптобіонтів бігаючих – 32%, свердловинників ріючих -12% , свердловинників бігаючих – 12%, свердловинників нірників –6% видів.

У підстилці ялиново-ялицевих лісів Українських Карпат на висотах 1100 - 1500 м над рівнем моря нами було виявлено: 20% видів - епібіонтів бігаючих, 23% видів - криптобіонтів бігаючих, 11% - свердловинників ріючих, 26% - свердловинників бігаючих, 6% видів - свердловинників нірників.

У підстилці мішаного лісу Українських Карпат на висотах 800 - 1100 м над рівнем моря нами було виявлено: 43% видів - епібіонтів бігаючих, 30% видів - криптобіонтів бігаючих, 17% видів - свердловинників ріючих, 4% видів - свердловинників бігаючих, 4% видів - свердловинників нірників.

У підстилці букового лісу Українських Карпат на висотах 300 – 800 м н.р.м. виявлено: 27% видів епібіонтів бігаючих, 31% видів - криптобіонтів бігаючих, 19% видів – свердловинників ріючих, 15% видів - свердловинників нірників, 8% видів - стратохортобіонтів.

У підстилці мішаного лісу (ялина, ялиця, бук) Передкарпаття на висотах 250 – 450 м над р. м. нами виявлено: 20% видів - епібіонтів бігаючих, 23% видів - криптобіонтів бігаючих, 26% видів - свердловинників ріючих, 14%, видів - свердловинників бігаючих, 11% видів – свердловинників нірників.

У підстилці букового лісу Передкарпаття на висотах 250 - 350 м над рівнем моря нами було виявлено: 38% - епібіонтів бігаючих, 21% - криптобіонтів бігаючих, 9% видів - свердловинників ріючих, 24% - свердловинників бігаючих, 9% видів - свердловинників нірників.

Марців М., Шельвінський В.

**ДОСЛІДЖЕННЯ ЖИВЛЕННЯ КУНИЦІ КАМ'ЯНОЇ (*MARTES FOINA*)
НА ТЕРИТОРІЇ ЛЬВІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: marichkamartsiv@gmail.com*

Martsiv M., Shelvinskyy V. RESEARCH OF FEEDING OF BEECH MARTEN (*MARTES FOINA*) IN LVIV REGION. In this paper, we highlight results of the research of Beech marten's feeding during 2015-2016 in Lviv region. Trophic preferences and seasonal features of dietary of the predator are shown there.

Вивчення особливостей живлення і трофічних зв'язків мисливських тварин має велике значення для створення господарських заходів для їх акліматизації та розведення. З'ясування кормової спеціалізації видів та сезонних особливостей живлення дозволяє проводити оцінку кормової бази мисливських видів, складати науково-обґрунтовані кадастри, прогнози чисельності та норми їх господарського використання [Смелов, 1985].

Матеріал для даної роботи зібрано протягом 2015–2016 рр. на території Львівської області. Застосовувався метод збору і аналізу екскрементів та вмісту шлунків загинув тварин. Зроблено розтин та аналіз 16 шлунків і 1 зразок екскрементів куниці кам'яної.

В результаті дослідження, було встановлено, що куниця кам'яна (*Martes foina*) харчується як рослинними, так і тваринними кормами. Рослини в її раціоні складають 51%, тварини – 47%, з яких 2% – це безхребетні. У зразках живлення даного виду були присутні 17 видів кормів. Серед яких рослини представлені 6 видами (соковиті корми – 18%, а сухі – 33%): плоди яблуні (*Malus domestica*) – 6%, груші (*Pyrus communis* L.) – 6%, терену (*Prunus spinosa* L.) – 6%, зернівки пшениці (*Triticum* L.) – 6%, соняшник (*Helianthus* L.) – 1% і трав'яна рослинність – 26%.

Тваринні корми включали 10 видів (птахи – 14%, ссавці – 33%): сич хатній (*Athene noctua*) – 2%, синиця велика (*Parus major*) – 2%, курка домашня (*Gallus domesticus*) – 2%, сорока (*Pica pica*) – 2%, крижень (*Anas platyrhynchos*) – 2%, полівка звичайна (*Microtus arvalis*) – 18%, пацюк сірий (*Rattus norvegicus*) – 3%, миша лісова (*Sylvemus sylvaticus*) – 6%, вивірка звичайна (*Sciurus vulgaris*) – 3%, кіт свійський (*Felis catus*) – 3%. В одному зразку були також присутні залишки молюска. Найчастіше серед хребетних траплялись ссавці, а саме полівки, а серед рослинних кормів – трав'яна рослинність.

В ході роботи ми встановили сезонні особливості харчування куниці кам'яної. Було з'ясовано, що восени куниця харчується переважно хребетними тваринами (66%) і меншою мірою рослинними (34%). Взимку було зафіксовано велику кількість рослинних кормів (60%), серед яких плоди – терену, яблука і груші. Так як цей вид часто живе поруч з людиною, переважно на горищах, то може харчуватись рослинними запасами людей, що для них більш вигідно ніж полювати на хребетних, яких було в зимовий період зафіксовано менше ніж восени – 40%. У весняний період знайдено найменше зразків харчування. У них переважали хребетні (75%), були вже присутні безхребетні (25%), рослин весною зареєстровано не було.

Під час досліджування харчування куниць, у кишечнику нам траплялись паразити. Вони були присутні у 35 % зі всіх зразків. Частіше це були нематоди (аскариди) – 67%, рідше трематоди.

Отже, куниця кам'яна, незважаючи на свою приналежність до хижих, частіше харчується рослинними кормами. В залежності від наявності того чи іншого корму може змінювати свій раціон, чим і пристосовувалась до найрізноманітніших умов існування і є невід'ємними компонентами біоценозів. Також цей вид виступає важливим регулятором чисельності мишоподібних гризунів, особливо полівок, які становлять 18% її раціону.

Муравинець О.

СТАЛІСТЬ ЕМБРІОНАЛЬНОГО РОЗВИТКУ І ОЦІНКА СТАНУ ПРИРОДНИХ ПОПУЛЯЦІЙ ПРУДКОЇ ЯЩІРКИ НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ (*LACERTA AGILIS* L., 1768)

Навчально-науковий центр «Інститут біології», Київський національний університет
імені Тараса Шевченка, проспект Академіка Глушкова 2, м. Київ, 03022, Україна
e-mail: ramota1022@meta.ua

Muravynets O. THE SUSTAINABILITY OF EMBRYONICAL DEVELOPMENT AND THE ASSESSMENT OF *LACERTA AGILIS* (*LACERTA AGILIS* L., 1768) WILD POPULATIONS AT THE UKRAINIAN TERRITORY. The results of studying the asymmetry of 25 bilateral pholidosis traits of 13 samples of sand lizard from Ukraine are presented in the paper. For these populations the representative signs were defined, revealing the closest value to the mean

level of asymmetry. There were found five populations of lizards, whose embryonic development is characterized as unstable, so the conditions for the existence of this species in these areas are characterized as critical. All other samples have low levels of ontogenetic sustainability that meets the unsatisfactory conditions.

Загальний обсяг обробленого матеріалу (13 вибірок) становить 420 особин - м. Київ, Труханів о-в (68); Київська обл., Вишгородський р-н, хутір Ровжі (68); м. Ужгород, Боздошський парк (47); Волинська обл., Шацький р-н., оз. Пісочне (26); Рівненська обл., Володимирецький р-н, с. Дубівка (28); Київська обл., Макарієвський р-н, с. Мостище (18); Житомирська обл., с. Майдан (29); Луганська обл., Стрільцівський степ (25); Харківська обл., с. Гути (20); Чернігівська обл., с. Снов'янка (25); Одеська обл., с. Курортне (20); Черкаська обл., с. Городецьке (26); Донецька обл. с. Піски (20).

Кожну тварину було проаналізовано за 25 білатеральними ознаками фолідозу, що підраховувалися на лівій і правій сторонах тіла. Первинні дані піддавалися статистичній обробці, яка включала розрахунок різниці між величинами ознаки зліва і справа (L-R), підрахунок кількості особин з асиметрією кожної з ознак, визначення середньої частоти асиметричного прояву на ознаку (СЧАПО) та методи описової статистики [Зайцев, 1984, Herczeg, 2005].

Було з'ясовано, що всі ознаки у досліджених вибірках мають нормальний або близький до нормального розподіл а статистичні тести показали, що переважній більшості ознак притаманний флуктуаційний розподіл даних. Середні значення СЧАПО було переведено у бали [Захаров та ін., 2001], за якими визначено рівень сталості розвитку та надано орієнтовну оцінку стану середовища у місцях існування популяцій.

Виявилось, що максимальні середні значення СЧАПО характерні для популяцій з о. Труханів (0,38), с. Городецьке (0,39), с. Піски (0,37), с. Мостище (0,35) і с. Снов'янка (0,36), що відповідає 5 балам і дозволяє оцінити ембріональний розвиток прудкої ящірки як нестабільний, а стан середовища як критичний. В інших популяціях середнє значення СЧАПО варіює від 0,31 до 0,34, що відповідає 4 балам і, відповідно, низькому рівню сталості розвитку при незадовільному стані середовища.

Важливо, що всі 13 середніх значень СЧАПО статистично достовірні ($t = 3,50 - 4,92$ при $0,01 > P < 0,001$), що дозволяє вважати цей показник рентабельним для оцінки сталості онтогенетичного розвитку та стану середовища існування популяцій прудкої ящірки.

На основі СЧАПО також були з'ясовані відмінності у відносній кількості асиметричних проявів для кожної ознаки. Виявилось, що ці показники майже однакові для різних вибірок. Цей факт дає змогу припустити, що прояв асиметрії в різних популяціях даного виду за аналогічними ознаками схожий і в подальшому може бути основою для створення єдиної системи оцінювання рівня сталості ембріогенезу прудкої ящірки за білатеральними ознаками фолідозу.

Оскірко О. С.¹, Некрасова О. Д.²

**ФЛУКТУЮЧА АСИМЕТРІЯ ДИСКРЕТНИХ БІЛАТЕРАЛЬНИХ ОЗНАК
КОМПЛЕКСУ СКЕЛЬНИХ ЯЩІРОК (LACERTIDAE: DAREVSKIA)
ЖИТОМИРСЬКОЇ ОБЛАСТІ, УКРАЇНА**

¹ ННЦ «Інституту біології та медицини»

Київського національного університету імені Тараса Шевченка

¹e-mail: saha1236@mail.ru

²Інститут зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАНУ

²e-mail: oneks22@gmail.com

**Oskyrko O.S.¹, Nekrasova O.D.² FLUCTUATING ASYMMETRY DISCRETE
BILATERAL FEATURES OF THE ROCK LIZARDS COMPLEX (LACERTIDAE:**

DAREVSKIA) IN ZHYTOMYR REGION, UKRAINE. This work is dedicated to the studying of fluctuating asymmetry of acclimatized rock lizards' complex. We explored 2 species: *D. armeniaca* and *D. dahli*, that were acclimatized near the sanatorium «Denyshi» in Zhytomyr region, Ukraine. The main aim of the study was to determine the manifestation of fluctuating asymmetry between these species. For this we selected 7 bilateral signs. As a result, all signs authentically different for the two species. This work is important for understand of folidosis role in distinguishing between different similarly looked species of lizards.

Скельні ящірки підроду *Archaeolacerta* (рід *Lacertidae*: *Darevskia*) - найбільш звичайні і значно поширені тварини гірського Кавказу. В 1963 р. проведено першу спробу акліматизації скельних ящірок в околицях санаторію «Дениші», в каньйоні р. Тетерів, де було випущено партеногенетичний вид *Darevskia armeniaca* (Mehely, 1909) [Даревский, Щербак, 1968] та *D. dahli* (Darevsky, 1957) [Доценко, Даревский, 2005] і пізніше *D. mixta* (Mehely, 1909) [Даревский, 2006]. Під час дослідження було зібрано вибірки двох видів *D. armeniaca* і *D. dahli* за 2015-20016 роки. *D. mixta* поки що не був знайдений.

З усіх стандартних фолідозних ознак [Darevsky, 1967; Dotsenko, et al., 2009] найбільш важливими для ідентифікації ящірок *D. armeniaca* і *D. dahli* є наступні: голова зверху, голова збоку, скронева область, анальна область, гранична область між тулубною лускою і щитками черева тощо. У *D. armeniaca* потиличний щиток один без додаткових структур. Між великим барабанним і центральним скронеvim щитками в переважній більшості випадків два характерних збільшених щитка розташовуються один над одним. У рідкісних випадках барабанний і центрально скронеvim щитки стикаються. *D. dahli* відрізняється від *D. armeniaca* двома додатковими лусками біля потиличного щитка. В 60% випадків задньоносовий і лобносовий абсолютно відділені один від одного або ж між ними розташований маленький додатковий верхньоносовий щиток. Верхньовійкові повністю відокремлені від надочних і мають 14-20 зерняток. Між центральним скронеvim і великим барабанним в найбільш вузькому місці знаходяться в одному ряду 2-4 збільшених щитка. Попереду анального отвору симетрично розташовані два збільшених прианальних щитка [Даревский, 1967].

Нами було прижиттєво вивчено 43 ящірки, з них 18 особин *D. dahli*, а 24 ящірки - *D. armeniaca*. Для визначення прояву флуктуючої асиметрії ми вибрали 7 білатеральних ознак, кількість лусочок (щитків): між барабанним і вушним, вушних, барабанних, нижньогубних, верхньогубних, прианальних щитків та стегнових пор. Для аналізу використовували дисперсію (Variance) як міру відхилення значень випадкової величини від центру розподілу та різницю кількісних показників (білатеральної ознаки) між правою і лівою сторонами тіла. Аналіз даних проводили за допомогою програми Statistica 10.

У результаті за допомогою дисперсійного аналізу ми виявили, що за всіма ознаками два види достовірно відрізняються. Але асиметрія у ящірок проявляється по різному. Прояв її за вушними, барабанними, нижньогубними щитками найбільш схожий у цих видів. В середньому прояв асиметрії у *D. armeniaca* (0,43) достовірно вище ніж у *D. dahli* (0,29), особливо по прианальних щитках (1,29 та 0,26). Не менш значущим показником для асиметрії є кількість стегнових пор. Їх кількість дуже близька в обох видів. Також, у особин *D. armeniaca* знайдено додаткові щитки на голові, а у *D. dahli* було відмічено лише одну особину з цією ознакою.

Панчук М., Решетило О.

**СТАВЛЕННЯ СУСПІЛЬСТВА ДО ЗЕМНОВОДНИХ (AMPHIBIA)
НА ПІДСТАВІ СОЦІОЛОГІЧНОГО ОПИТУВАННЯ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: MARY2010777@gmail.com*

Panchuk M., Reshetylo O. THE ATTITUDE OF SOCIETY TO AMPHIBIANS (AMPHIBIA) BASED ON SOCIOLOGICAL SURVEY. Sociological survey of the attitude of society to amphibians – one of the vulnerable classes of animals – was carried out. Two age groups of respondents (78 school-children and 576 adults) answered the specially elaborated questions in the forms (direct survey using paper forms and indirect internet survey by means of social networks). More positive attitude to amphibians in younger age group compare to the older one was found out (19% vs 3%).

У суспільстві поширені неоднозначні думки і погляди на представників такого класу тварин як земноводні: одні вважають їх небезпечними, гидкими та непотрібними, а інші – залюбки тримають їх удома в тераріумі як домашніх улюбленців. Метою нашого дослідження було з'ясувати ставлення громадськості до земноводних. Задля цього ми провели опитування, для якого була підготована спеціальна анкета.

Було опитано дві вікові групи людей: молодшу (школярі) та старшу (особи віком понад 18 років). Анкети були альтернативними та закритими, тобто з одним варіантом можливої відповіді із кількох запропонованих. Для обох категорій опитуваних був використаний однаковий тип анкети, який містив 16 запитань, з яких два були соціоінформаційними (вік і стать), а решта – смисловими (наприклад, «Чи відомо Вам, що таке земноводні, або амфібії?», «Скільки видів земноводних Ви можете назвати?», «Чи бувають земноводні з хвостом?» тощо). Запитання були простими, зрозумілими, інформативними та коректними, адже попередньо були узгоджені зі спеціалістами-соціологами. Результати опитувань опрацьовані статистично за допомогою програми «Excel».

Опитування молодшої вікової групи було здійснене у п'ятих, сьомих, дев'ятих і десятих класах (школярі 10-16 років). Анкетування було добровільним. Перед опитуванням був проведений інструктаж. Кількість опитаних становила 78 осіб. Використання роздаткового методу тестування молодшої вікової групи респондентів полягало в тому, що цей спосіб опитування є найнадійнішим – гарантує добросовісне заповнення анкет і їх повернення. Натомість, цей метод багато в чому залежить і від умінь анкетера встановити психологічний контакт з респондентами, створити сприятливу атмосферу при опитуванні тощо.

Опитування старшої вікової групи проводили в інтернеті за допомогою «Google форми» – зручного інструменту не лише для опитування й анкетування, а й для нагромадження потрібної інформації та планування її аналізу. Опитування старшої вікової групи було розрекламоване у соціальних мережах («Facebook», «Вконтакті» і «Twitter») та на поштових серверах пошуковиків «Яндекс» і «Gmail». Інтернет-опитування цієї групи осіб було доступним протягом місяця часу і в ньому взяли участь 576 осіб.

Підсумовуючи, насамперед слід наголосити на тому, що соціологічне опитування на предмет ставлення суспільства до земноводних вказало на певні відмінності у сприйнятті земноводних людьми різного віку. Зокрема, слід відзначити загалом більш позитивне емоційне сприйняття амфібій школярами, порівняно з дорослими людьми (19% школярів на противагу 3% дорослих), хоча близько двох третин дорослих респондентів вважають за доречне пропагувати позитивне ставлення до земноводних шляхом використання їх для створення логотипів торгових марок, різноманітних емблем тощо (серед школярів таку думку підтримали лише 14% респондентів). Ще одним показовим результатом опитування є частка людей, які ніколи не брали земноводних у руки – 33% серед школярів і 28% серед дорослих.

Перегінєць Г. А.

VIVIPARUS VIVIPARUS У ТАНАТОЦЕНОЗАХ СЕРЕДНЬОЇ ТЕЧІЇ РІЧКИ СІВЕРСЬКИЙ ДОНЕЦЬ (С. ГАЙДАРИ, ЗМІЇВСЬКИЙ Р-Н, ХАРКІВСЬКА ОБЛ., УКРАЇНА)

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна
Біологічний факультет, кафедра зоології та екології тварин
пл. Свободи 4. р. Харків 61022, Україна
e-mail: Frosik1997@i.ua*

Peregineets. H. A. VIVIPARUS VIVIPARUS IN TANATOCOENOSIS OF THE MIDDLE PART OF THE SIVERSKY DONETS RIVER (GAIDARY VIL., ZMIEVSKOY DISTR., KHARKIV REGION, UKRAINE). In the Seversky Donets River tanatocoenosis more than 1,400 specimens of mollusk shells was collected. A comparison of morphometric characteristics of *Viviparus viviparus* from tanatocoenosis at depths of 3 and 5 m was carried out. The equations to calculate the mass of the shell by shell morphometric characters were obtained. It is shown that the shells from depth 3 and 5 m differ significantly on the morphometric characters, but do not differ in the shell weight.

На різних ділянках русла річки Сіверський Донець відбувається формування танатоценозів, що складаються з різноманітних безхребетних. Значну їх частину становлять моллюски, а саме їх черепашки. Наше дослідження присвячене саме процесам формування танатоценозів та аналізу їх видового складу.

Протягом липня 2016 року річці Сіверський Донець, поблизу Біологічної станції ХНУ імені В.Н. Каразіна (Зміївський р-н) було проведено дослідження 15 танатоценозів, що формуються на різних глибинах та біотопах. Відбір зразків для фауністичного та морфометричного аналізів відбувався зі стандартної площі 25х25 см. Всього зібрано більш 1400 зразків, що відносяться до 22 видів моллюсків.

Для тестового порівняння танатоценозів обрано сайт 7.07.2016. з глибинами збору 3 та 5 м. Порівнювалися морфометричні характеристики раковин *Viviparus viviparus*. Для всіх раковин виміряні ширина раковини (W_r), висота раковини (H_r), ширина устя (B_u), висота устя (H_u), висота завитка (H_z), маса раковини (M_r). З глибини 3 м зібрано і виміряно 62 зразки, з глибини 5 м – 135 зразків. Для статистичного аналізу використовувалася програма Statistica 6.0, Excel. Для обраних пар морфометричних ознак будувалися графіки залежності від M_r . За основу була прийнята логарифмічна модель залежності M_r від зазначених морфометричних ознак. Для побудови графіків, розрахунку рівнянь залежностей і визначення ступеня перекриття довірчих інтервалів застосовувався метод «Double-y».

Отримані рівняння залежностей і графіки перекриття довірчих інтервалів при розрахунку M_r за W_r , H_r , B_u , H_u , H_z . Випадки найбільшого перекриття довірчих інтервалів відзначені для залежностей W_r , H_u та середнє B_u та H_z від M_r . Одержано рівняння для розрахунку маси раковини за морфометричними ознаками для подальшого неруйнівного аналізу живих об'єктів. Порівняння способів розрахунку M_r проведено методом двох незалежних вибірок для непараметричних даних ($p < 0,05$). Показано, що найбільш достовірні результати отримано при розрахунку середніх мас раковин, що отримані при використанні морфометричних ознак. При порівнянні морфометричних характеристик раковин з різних глибин методом двох незалежних вибірок для непараметричних даних ($p < 0,05$) показано, що вибірки з глибин 3 та 5 м достовірно відрізняються за всіма наведеними морфометричними ознаками, за виключенням маси раковини ($p \rightarrow 1$). Це може свідчити про розподіл моллюсків за формою раковини в залежності від глибини. Впливати на це можуть різні швидкості придонної течії і відмінності в субстраті.

Посреднікова К.

**ІНДИВІДУАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ВОКАЛІЗАЦІЇ ДЕРКАЧА
(*CREX CREX LINNAEUS*, 1758)**

*Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна
пл. Свободи, 4, м. Харків, 610077, Україна
e-mail: rinavolchenok@gmail.com*

Posrednikova K. INDIVIDUAL CHARACTERISTICS OF CORNCRAKE (*Crex crex* Linnaeus, 1758) SONG. Vocal individuality could be used in census estimates and studying the way of life of corncrake. It appears to be cheaper and sometimes more effective method than ringing and radio-tagging or could be used in addition to them. In this study we analyzed of 55 records of male's corncrake songs which have been obtained during 4 breeding seasons. The results confirm the existence of individual difference in song; showed two cases of using the same territory of nesting during several years.

Пісня деркача коротка, складається з двох однакових за звучанням складів, складовими яких є чітко виражені пульси; характеристики крику є індивідуальними для кожної особини і можуть використовуватись для індивідуального розпізнання [Mikkilsen, 2009; Peake & McGregor, 2001]. Метод ехолокації часто є єдиним у дослідженні видів, що мешкають у важкодоступних зонах або ведуть прихований спосіб життя.

Метою цієї роботи було: 1) відпрацювання методів дослідження індивідуальних особливостей крику деркача; 2) дослідження стабільності використання території гніздування деркача протягом кількох років за допомогою акустичних методів.

В роботі використано 55 аудіозаписів крику самців деркача, зроблених у 2013, 2014, 2015 рр. (надані А. А. Атемасовим та Т. А. Атемасовою), та у 2016 р. (власні записи) в Харківській області – у заплаві річки Сіверський Донець (територія від с. Камплія до біостанції ХНУ імені Каразіна у с. Гайдари). Записи проводили у нічну пору доби (22.00 – 03.00; період максимальної вокальної активності) з 15 травня по 10 червня, в ясну безвітряну погоду за допомогою цифрового диктофону Olympus VN-4100 PC та направленої мікрофону ME-52W. Обробку записів проводили в програмі Cool Edit Pro v. 1.2 за допомогою методу осцилограм. В кожному записі досліджували 10 криків за 11 параметрами (6 вимірюваних, 5 розрахункових) [Атемасов та ін., 2009]. Аналіз даних проводили у програмах Statistica 10, Past 3 та RStudio.

Результати дискримінантного аналізу виявили наявність статистично достовірних відмінностей між особинами за всіма параметрами ($p < 0,000$), найбільший вклад у відмінності вносили кількість пульсів у другому складі, сумарна тривалість складів та відстані між ними й відношення відстані між криками до сумарної тривалості складів та відстані між ними. Аналіз головних компонентів (PCA) виявив наявність двох пар аудіозаписів зі схожими параметрами: 1) у 2014 та 2016 роках; 2) у 2014 та 2015 роках. Кластерний аналіз та базоване на ньому попарне порівняння підтвердило схожість параметрів крику першої пари записів. Отже, на досліджуваній ділянці підтверджено повторне використання гніздових територій двома самцями деркача, причому один з них зареєстрований з інтервалом в 1 рік.

Автор висловлює вдячність старшому науковому співробітнику НДІ біології ХНУ імені Каразіна Атемасову А.А та доценту кафедри зоології та екології тварин Атемасовій Т.А. за надання матеріалів та наукове керівництво.

Романків Л., Лєсник В.

ПОШИРЕННЯ ПІЧКУРІВ У ВОДОЙМАХ ЗАХОДУ УКРАЇНИ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: lilia27121993@gmail.com

Romankiv L., Liesnik V. DISTRIBUTION MINNOWS IN WATERS WEST OF UKRAINE. Analysis of available scientific publications certified the presence in the reservoirs of the western part of Ukraine of five species of minnows. Three species represented genus Gudgeon – *Gobio*: *G. gobio*, *G. uranoscopus*, *G. carpathicus*, and two – genus White-finned minnow – *Romanogobio kessleri*, *R. belingi*.). Our data testify to the presence of Northern whitefin gudgeon *R. belingi* both in Upper Dnister and Upper Pripiat region. The status is being specified.

Річкові системи заходу України представлені водотоками з різними гідрологічними та гідрохімічними параметрами. Відрізняються за хімічним складом і структурою й ґрунти, що утворюють річища і корита водойм. Але майже повсюдно до їхнього складу входить пісок і гравій – улюблене середовище псамофільних організмів. До числа останніх належать пічкурі – представники родів *Gobio* і *Romanogobio*, яких на окресленій території, згідно з опублікованими даними, у статусі виду на сьогодні розрізняють п'ять: пічкур звичайний *Gobio gobio* Linnaeus, 1758; пічкур карпатський *G. carpathicus* Vladykov, 1925 (варіанти – підвид *G. gobio carpathicus* Vladykov, 1925; раніше – *G. gobio obtusirostris* Valenciennes, 1842); пічкур дунайський довговусий *G. uranoscopus* Agassiz, 1828 (варіант – білоперий пічкур дунайський *Romanogobio uranoscopus* Agassiz, 1828); білоперий пічкур дніпровський *R. belingi* Slastenenko, 1934; білоперий пічкур дністровський *R. kessleri* Dybowski, 1862.

Діагностичні ознаки родового рівня зводять до кількості розгалужених променів у спинному плавці (*Gobio* – 7, *Romanogobio* – 8); беруть до уваги довжину вусиків, пропорції хвостового стебла, пігментацію тощо. Видові ознаки – наявність луски на горлі. Упевнене визначення досі є проблемним, особливо стосовно риб, що заселяють гірські водойми. Як свідчать результати досліджень, пічкурам властива певна внутрішньовидова мінливість у залежності від стрімкості течії, хімізму води та характеру субстрату.

Нашими дослідженнями виявлено, що в басейнах усіх річок а також у багатьох ставках і озерах даної території трапляється пічкур звичайний. У деяких гірських водотоках у звичайного пічкура зменшена кривизна черева (відстані PV, VA) і загострене рило. Максимальний розмір і вік пічкура звичайного відповідно 12 см (22 г) і 5 років.

Пічкура дунайського довговусого після 2011 року ловили у р. Ріка біля с. Березово Хустського району та у р. Тиса біля смт. Вишково також Хустського району та с. Гетиня Виноградівського району.

Щодо білоперого пічкура, то ареал роду охоплює головні та деякі другорядні водотоки рік Чорноморського басейну. Риб цього роду не виявляли у Західному Бузі та верхньої Прип'яті. Білоперого пічкура дніпровського ловили в головному руслі ріки Дністер (від с. Розвадів Миколаївського району і нижче), а білоперий пічкур дністровський траплявся у Дністрі біля с. Чайковичі, у р. Стрий біля Нижнього Синьовидного, у р. Лімниця нижче смт. Перегінського.

У наших матеріалах з допливу Прип'яті (р. Стохід біля с. Нові Червища) 2012 року білоперий пічкур є. Найбільш імовірно, що це – білоперий пічкур дніпровський, однак генетичних досліджень, необхідних у цьому випадку, ще не провели.

Boychuk L., Zamoroka A.

**DISTRIBUTION OF THE EPIGEOUS COLEOPTERA AMONG HABITATS
IN "KASOVA HORA" STEPPE LOCALITY (HALYCH NATIONAL PARK)**

*Vasyl Stefanyk Precarpathian National University
T. Shevchenko, 57, Ivano-Frankivsk, Ukraine, 76018
e-mail: andrii.zamoroka@pu.if.ua st.naturalist@gmail.com*

"Kasova Hora" is a relict remnant of steppe ecosystem, which origin dates back at least to Atlantic Time of Holocene (7-5 ka). However, the presence of the montanic plants species in the vegetation of "Kasova Hora" referred us much further into the past to the last glaciation (100-10 ka). The most likely its genesis was held in several stages. Thus, the current ecosystem of "Kasova Hora" is intricate combination of xerothermic steppe and boreal and montanic and temperate vegetation patches [Shelyah-Sosonko, 1981]. "Kasova Hora" has been suggested the plants biodiversity hotspot. Over 300 plant species were found here [Shelyah-Sosonko, 1981]. Unfortunately, the insect diversity of "Kasova Hora" is still almost completely unknown. Several papers on insects from "Kasova Hora" were published in early XX century [Kinell and Noskiewicz, 1924, 1930; Kuntze, 1922, 1929; Kuntze and Noskiewicz, 1938; Smreczynski, 1937, 1939]. Eventually, 73 species of insects has been known in available published data.

We conducted our studies in years 2014-2016 in the steppe locality "Kasova Hora" (49.13.34°N-24.41.40°E) with total area 2.6 sq. km. It is situated near town Burshtyn of Ivano-Frankivsk Region, Ukraine. We charted the transect across the hill and set six sample plots (SP) in various types of opened habitats. SP-1 is wetland meadow of mound fen in south-western foothill of "Kasova Hora"; SP-2 is mesophilic meadow in south-western foothill; SP-3 is xerophilic steppe meadow on southern steep slope (30°); SP-4 is meso-xerophilic steppe meadow on the hill plateau; SP-5 is wetland meadow in karst fen on the north-eastern slope; SP-6 is mesophilic meadow in north-eastern foothill. We applied insect collection method of soil pitfall traps with preservative solution. The materials were obtained every two weeks during a vegetation season.

Applied methods of insect collection allowed us to identify 156 species of Coleoptera on "Kasova Hora". We found that coleopteran communities related to habitat conditions, e.g. soil humidity, soil temperature, height of vegetation, direct insolation of soil surface et cet. At the SP-1 we found 63 species from 14 families. The most abundant species were *Badister bullatus*, *Carabus cancellatus*, *Carabus granulatus*, *Leistus ferrugineus*, *Pseudoophonus rufipes*, *Cercyon analis*, *Drusilla canaliculata*, *Timarcha goettingensis*. At the SP-2 we collected 80 species which belong to 18 families. The most abundant species were *Carabus scabriusculus*, *Carabus convexus*, *Ophonus puncticollis*, *Drusilla canaliculata*, *Opatrum sabulosum*, *Agriotes lineatus*, *Timarcha goettingensis*, *Dorcadion fulvum*, *Lepyrus capucinus*, *Sitona striatellus*. At the SP-3 we found 65 species from 17 families. The most abundant species were *Brachinus crepitans*, *Carabus scabriusculus*, *Ophonus puncticollis*, *Opatrum sabulosum*, *Pedinus femoralis*, *Dorcadion fulvum*. At the SP-4 we found 58 species from 16 families. The most common species were *Brachinus crepitans*, *Carabus scabriusculus*, *Carabus excellens*, *Ophonus puncticollis*, *Drusilla canaliculata*, *Lethrus apterus*, *Opatrum sabulosum*, *Pedinus femoralis*, *Agriotes lineatus*, *Dorcadion fulvum*, *Dorcadion holosericeum*, *Sitona striatellus*. At the SP-5 we collected 78 species, which belong to 15 families. The most abundant species were *Agonum viduum*, *Amara spreta*, *Badister bullatus*, *Carabus granulatus*, *Clivina fossor*, *Leistus ferrugineus*, *Oodes helopioides*, *Oxytelus obscurus*, *Poecilus cupreus*, *Pterostichus anthracinus*, *Trechus quadristriatus*, *Hydrochus brevis*, *Drusilla canaliculata*, *Paederus littoralis*, *Philonthus decorus*, *Dryops ernesti*, *Agriotes lineatus*, *Bagous luteiventris*. Finally, at the SP-6 we collected 91 species from 17 families. The most abundant species were *Abax carinatus*, *Poecilus cupreus*, *Aleochara curtula*, *Drusilla canaliculata*, *Tasgius ater*, *Xantholinus dvoraki*, *Phyllopertha horticola*, *Telmatophilus typhae*, *Agriotes obscurus*, *Timarcha goettingensis*, *Argoptochus quadrisignatus*, *Omiomima mollina*, *Sitona striatellus*. Consequently, the epigeous coleopteran fauna at the "Kasova Hora" is highly diverse and patchy and vary among habitats. For the integrated assessment of coleopteran diversity at "Kasova Hora" the further studies are needed.

Koval Y., Ivanets O.

ACROPERUS HARPAE (BAIRD, 1834) (CLADOCERA: ANOMOPODA: CHYDORIDAE)
IN THE TAXONOMIC STRUCTURE OF CLADOCEROCENOSSES
UKRAINIAN ROZTOCZE

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi Str., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: oleh_ivanets@ukr.net*

The problem of conservation of plankton diversity, that has a key position in hydroecosystems and ensure their optimal functioning in the face of increasing anthropogenic pressure is one of the most important tasks. Populations of Chydoridae species, in particular, *Acroperus harpae* (Baird, 1834) in this regard, is of particular interest, as the intertidal zone reaches high values of its abundance and biomass. As filter-feeders and primary consumers they play an important role in the functioning of trophic network in hydroecosystems, accumulation secondary production in hydroecosystems, and water purification processes. Thus, Chydoridae ensure efficient conversion of matter and energy.

However, regional *Chydoridae* fauna, morphometric characteristics of individual species, their ecological characteristics so far have been studied insufficiently. Its morpho-ecological characteristics in accordance with the recommendations of the EU Water Framework Directive (Directive 2000/60 / EC) are of particular importance in conducting a hydrobiological monitoring. In Roztocze region UNESCO Biosphere Reserve «Roztocze» was created. It is composed of just three objects of nature conservation fund of Ukraine: Nature Reserve «Roztocze», National Nature Park «Yavorivsky» and Regional Landscape Park «Ravs'ke Roztocze.» Features of the hydroecosystems are determined by the hydrographic network, which is asymmetric due to nature of the terrain. Such asymmetry is determined by steeper western and north-western slopes of the ridges and hills. [Kovalchuk, Petrovs'ka 2003; Petrovs'ka, 2001].

Family *Chydoridae* represents a significant share in cladocercenoses; it includes 18 species. To understand the role of individual taxons the taxonomic analysis of cladocercenoses was conducted. The basis of the analysis of taxonomic structure entrusted the features of biology and trophic adaptability of Cladocera considering features that provide nutrition and at the same time are diagnostic for different groups. In total, the representation of family *Chydoridae* in the number of genera in cladocercenoses is 42% and the number of species is 43%. The representation of *Acroperus* is 2%, and *Chydoridae* - 6%. Morpho-ecological characteristics of *A. harpae* in Ukrainian Roztocze pointed out yellowish, transparent and striped shell. Length of females is 0.69 - 1.1 mm, males - 0.51 - 0.61 mm. Postabdomen claws are long with large basal spike and a number of small cloves along the upper half of the concave edge. Distal clove is greater than others. Male rostrum is short and dull. Front antennae act from the rostrum. Male's postabdomen is significantly lower than in females's one. In the reservoirs of Ukrainian Roztocze *A. harpae* occurs primarily among the thickets in the littoral zone waters. The life cycle ends in late October or November.

Taxonomic structure of cladocercenoses of Ukrainian Roztocze indicates well-developed trophic network. Less diverse group of genera of lower ranks, such as genus *Acroperus*, play a leading role in cenosis in stressful situations, determining overall stability of functional groups. They are a kind of filter, which cleans the water and supports the ecological balance of the ecosystem.

Osiyeva A.-A., Reshetylo O.

**BIOTIC CHARACTERISTICS OF FIRE-BELLIED TOADS
(*BOMBINA*, AMPHIBIA) OF BIBRKA-STILSKO HILL RIDGE**

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi Str., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: nastya.osiyeva@gmail.com*

Fire-bellied toads of *Bombina* genus (Anura, Bombinatoridae) are classic model objects for interspecific hybridization investigations [Hewitt, 1988; Jiggins and Mallet, 2000]. For the first time in the last 20 years the inventory of two European fire-bellied toad species – Fire-bellied toad (*Bombina bombina*), yellow-bellied toad (*B. variegata*) and their hybrids (*B. bombina* × *variegata*) within Bibrka-Stilsko Hill ridge has been made.

As the general plan of fire-bellied toads' abdominal pattern is species-specific, we used phenetic analysis to establish the abdominal pattern index [Hofman, Szymura, 1998]. The abdominal pattern index is based on number of diagnostic ventral spots connections. Besides, we took into account their bioacoustic distinctions, pupil index, biotope preferences to determine the taxonomic status accurately [Gollman, 1987; Решетило, 2000; Решетило, 2001]. Bioacoustic distinctions are based on frequency of male calls. The shape of *Bombina* pupil also determines differences between the species.

The material was collected in April-May of 2016 on the territory of Pustomyty and Pere-myshliany districts of Lviv region. During the inventory only individuals of *B. bombina* and the hybrids were found, while the predecessors' data indicates *B. variegata* presence as well [Горбань, Шайтан, 1993]. In general, on the territory of Bibrka-Stilsko Hill ridge over 30 ponds were examined. Over 50 fire-bellied toad individuals were detected in 15 of them. Some of the ponds are in inadequate condition. It is concluded that we need to protect habitats of fire-bellied toads and other amphibians (*Pelobates fuscus*, *Pelophylax esculentus*, *Triturus cristatus*, *Lissotriton vulgaris* etc.) which occur in the same ponds with *Bombina*, because of anthropogenic pressure. As far as European fire-bellied toads are adapted to different breeding habitats (*B. bombina* reproduces in clear semi-permanent ponds and *B. variegata* is a typical puddle breeder), the main water body types chosen by the investigated individuals of fire-bellied toads were lakes, ponds, puddles, melioration ditches. It was drawn the conclusion, that hybrids of fire-bellied toads colonize habitats with parameters and the characteristics that are more resemble to ponds specific for yellow-bellied toads (e.g. automobile tracks, puddles with muddy water). It was established that *B. bombina* call frequency was $20 \pm 2,6$ calls/min., and for the hybrids – more than 30 calls/min. Fire-bellied toads had more rounded pupil (the index value was approximately 1,0) in comparison with hybrids (0,7-0,8).

According to our results, the hybridization effect of fire-bellied toads is presented in given region, while no other parental species (yellow-bellied toad), nor clear limits of the hybrid zone within the region have been found. In particular, *Bombina* hybrids were found in the following localities: Kuhaiv (small ditch along the palisade), Pidtemne (melioration ditch along the road with dense aquatic vegetation, anthropogenic puddle near the private pond, flood plain pasture on the bank of Zubra river), Tovshiv (automobile track on the field road), Velyki Glibovychi (big lake with aquatic vegetation, automobile track on the pasture, private pond). We have an assumption, that the structure of hybrid zone of European fire-bellied toads within Bibrka-Stilsko Hill ridge might be mosaic, as it has been suggested for Croatia [McCallum et al., 1998].

Turak T., Zamoroka A.**THE PHENOTYPIC VARIABILITY OF *PIDONIA LURIDA* F. (COLEOPTERA: CERAMBYCIDAE) IN METAPOPULATION FROM THE UPPER DNISTER BASIN**

*Vasyl Stefanyk Precarpathian National University
T. Shevchenko, 57, Ivano-Frankivsk, Ukraine, 76018
e-mail: andrii.zamoroka@pu.if.ua st.naturalist@gmail.com*

The Palearctic genus *Pidonia* Mulsant, 1863 comprises over 150 species, including a sole European species of *Pidonia lurida* Fabricius, 1792. *P. lurida* is evolutionally young species [Vitali, 2004], which emerged during last glaciation in isolated refuges of beech forests (*Fagus sylvatica* L.) the most probably on Balkans. Its spreading into Central Europe have been associated with subboreal (5-3 ka) expansion of *F. sylvatica* [Pott, 1997; Kalynovych, 2010]. At the present, *P. lurida* is common species in beech forests under wide range conditions from boreal-montanic to temperate [Zamoroka, 2009; 2012; 2016]. Thus, the local environmental conditions drive the phenotypic variability of *P. lurida*.

The study was conducted in years 2012-2016 in the numerous local populations within Carpathians Region. Data from three the most distinct population is showed here. These include one mountain population from North Gorgany Mountains (48°37.51N–23°58.10E) and two lowland populations from South Opillya (49°15.07N–24°23.16S) and East Roztocha (49°58.58N–23°38.55E). We randomly sampled 20 specimens in every population, and then analyzed cuticle coloration of head, pronotum, thorax, abdomen and legs.

We found three phenotypic classes of cuticle coloration in studied populations of *P. lurida*. These include black, fulvous and rufous cuticle coloration. The combination of the phenotypic classes is highly vary within the metapopulation of *P. lurida* in the Basin of Upper Dnister River. The differences among studied population are over 60-80%. The intrapopulation variability of *P. lurida* phenotypes is low in the mountain population and it is high in the lowland populations. The most specimens (95%) in population from North Gorgany Mountains belong to black coloration phenotypic class. Only 5% of specimens represent the fulvous coloration phenotypic class. The very similar phenotypic classes we found in *P. lurida* population from South Opillya. However, this population is more variable than previous. For instance, black colored specimens constitute 70% of population and 30% of specimens belong to fulvous colored phenotypic class. Finally, *P. lurida* population from East Roztocha is the most variable among other. We found that it comprises 10% of black and 30% of fulvous and 60% of rufous colored specimens. In addition, we noticed that in lowland populations females of *P. lurida* usually have lighter coloration of cuticle than males.

The divergence of *P. lurida* population in the Basin of Upper Dnister River has been induced by disruptive natural selection. This selection drives the survival of specimens, which pose the phenotypic morphs appropriate to the local ecological conditions. We suggest that the natural selection pressure is lowest in *P. lurida* population from East Roztocha, since the highest phenotypic variation was found here. In other hand, the absolute domination of black coloration phenotypic class in mountain population is the result of the intrapopulation stabilizing natural selection. We believe, that dark coloration of specimens able them to survive in cold montanic conditions. In contrast, the light colored morphs of the beetles are adaptation to the warm and dry climate of lowlands. Consequently, we suggest that phenotypic variability of *P. lurida* reflects its adaptive plasticity from one side and evolutionary incompleteness of forming of the stable morphological characters from other side.

Wieczorek M.¹, Najbar B.¹, Walińska K.^{1,2}

THE ACTIVE PROTECTION OF AMPHIBIANS IN THE MINERAL RESOURCES
MINE IN NOWOGRÓD BOBRZAŃSKI (WESTERN POLAND)

¹ University of Zielona Góra, Faculty of Biological Sciences

1 Prof. Z. Szafrana St., 65-516 Zielona Góra, Poland

² Kepler's Science Centre – Nature Centre in Zielona Góra

14 Gen. J. Dąbrowskiego St., 65-021 Zielona Góra

e-mail: rosli@wp.pl

Despite the small number of amphibian species settling Poland, a great part of them is subjected to a significant loss in number. It applies to local populations in the areas where exploitative activity still is or have been conducted in the recent years. It seems legitimate to introduce initiative of amphibians protection in places where this kind of activity has been finished or partially finished.

The area of our investigations conducted in 2016, was The Mineral Resources Mine in Nowogród Bobrzański, near Zielona Góra (western Poland).

The main aims of the investigations were to: in a first step - inventory the actual composition of amphibian species, mark the strength of certain populations, test the water quality at the angle of its usefulness and reproduction for amphibians, identify their most significant habitat (yearlong or periodic – reproductive), protect the most important habitat temporary and in the final stage - create substitutive habitat.

In mine, the presence of four amphibian species in the family Ranidae has been confirmed. These were: the Marsh frog (*Pelophylax ridibundus*), pool frog (*Pelophylax lessonae*), edible frog (*Pelophylax esculentus*) and common (grass) frog (*Rana temporaria*). We have also seen, different stages of maturation of the abovementioned species of frogs, starting with squawk by tadpoles, to young individuals to adults. It is also known that in 2014 several other species of amphibians were noticed in this area (10 species in total).

In order to optimize the habitat conditions of amphibians in the test site we offer the following solutions:

- shallow tanks at the shoreline, to present the exact locations used a map of the test site and photographs,
- the creation of several new, shallow, fishless waters, with an area of approx. 16-20 square metres and a depth of approximately. 1 m, in the sunlight,
- the deepening of existing ponds, where the best observed mating clusters, in order to reduce their drying up,
- educational activities - setting information boards about amphibians, and warning signs, near their breeding sites. In areas exposed to greater penetration by humans, setting the bars that restrict access.

Zahorodnyi I., Komarnytskyy I., Dykyy I.

THE DIVERSITY AND NUMBER (QUANTITY) OF SMALL MAMMALS
ON THE TERRITORY OF "CHOLGYNI" ORNITHOLOGICAL RESERVE

Ivan Franko National University of Lviv

4, Hrushevskiy St., Lviv, 79005, Ukraine

e-mail: vaniazahorodniy@gmail.com

Small mammals are the major part of the species richness of mammal fauna of Ukraine as well as the dominant group of mammals by their density and biomass in the most regions of Ukraine [Zagorodniuk, 2002]. There are many articles dedicated to the research of their biology [Colley, 1979; Lyek, 1957; Naumov, 1948; Sokurov, 1960]. Studying animal communities has no

sense to be limited by the inventORIZATION only; the quantitative relationships are of much more interest [Zagorodniuk, 2002; Formozov, 1981].

The information about current mammal fauna is still fragmentary. The species composition of mammal fauna requires revision in this regard. In addition, there have been changes in the systematization of mammals names recently [Zagorodniuk, 1999, 2002; Pavlinov, 1987].

«Cholhyni» ornithological reserve is located on the territory of Ukrainian Roztochya. Its area is 820 hectares. The main relief-forming element of the area are valleys of Shklo and Hnoyenets rivers with their numerous tributaries, that flow together near the Yavoriv town and fall into the San river. The reserve is located on the area with abundant moisture. The average annual rainfall is 720 mm and evaporation is 608 mm.

The landscape of the reserve includes several types of plant communities that are typical for an open area. The most common one is damp brushwood overgrown with reed (*Phragmites* sp.), cattail (*Typha* sp.), sedge (*Carex* sp.), willow (*Salix* sp.) and some other plants. The other one is short grass meadow with short vegetation and sandy patches [Dyky et al., 2002; ZUOS..., 2002].

The registartion of small mammals was carried out by pitfall traps. We used two pitfall traps 10 m long with five cylinders every 2.5 m each. The traps had been exposed in August (2014-15) for 53 days in total, 54 small mammals were caught.

The trapped animals were determined in the field using the key-book, labeled and released. We identified dead small mammals in the laboratory [Dyky et al., 2002; Zagorodniuk, 2002].

All the data (location, date, species, number of animals of each species etc) were recorded in the table. The calculations were made after on the basis of this table.

The sum of all captures per year was taken into consideration when calculating the species number, number of individuals of the certain species, and total annual relative number of small mammals. Dominants were considered the species that occurred the most often, subdominants – the species with the occurrence over 7%.

The community of small mammals on the territory of «Cholhyni» ornithological reserve consists of 7 species: *Microtus arvalis*, *Micromys minutus*, *Apodemus agrarius*, *Mus musculus*, *Sorex araneus*, *Sorex minutus*, *Crocidura suaveolens*. As a result of two-year study the dominant species in the studied area is common vole (46,3% of all species that were caught). But if we compare the results of the captures in 2014 and 2015, we can see that the number of trapped individuals of common vole was significantly lower in 2014 and the dominant species in the studied area was striped field mouse. We suggest that the population of *Microtus arvalis* was depressed in 2014, and recovered its quantity in 2015, or maybe there was a rapid increase of birth rate for some reasons, which led to the significant increase in the number. The group of subdominants consists of: *Apodemus agrarius* (22,2%), *Sorex araneus* (11,1%) and *Sorex minutus* (7,4%). The numbers of such species as *Micromys minutus*, *Mus musculus*, *Crocidura suaveolens* are less than 7% and ranges between 1,9-5,6%.

МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІЯ ТА ІМУНОЛОГІЯ MICROBIOLOGY, VIROLOGY AND IMMUNOLOGY

Банах С.¹, Демків О.², Гайда Г.², Гнатуш С.¹

**ПРОДУКЦІЯ ПОЗАКЛІТИННОЇ ГРИБНОЇ ЛАККАЗИ
ШТАМАМИ *STACHYBOTRIS CHARTARUM* ТА *MONILINIA FRUCTICOLA***

¹Львівський національний університет імені Івана Франка вул. Грушевського, 4
м. Львів, 79005, Україна

² Інститут біології клітини вул. Драгоманова 14/16 м. Львів, 79005, Україна
e-mail: solomia31@gmail.com

Banakh S.¹, Demkiv O.², Gayda G.², Gnatush S.¹ PRODUCTION OF EXTRACELLULAR FUNGAL LACCASE BY *STACHYBOTRIS CHARTARUM* AND *MONILINIA FRUCTICOLA* STRAINS The screening of fungal strains on a capability to laccase synthesis was carried out and the best producers of extracellular enzyme – *S. chartarum* and *M. fructicola* strains were selected. The ability of the fungi *S. chartarum* and *M. fructicola* to produce laccase extracellularly was demonstrated in the first time, the optimal conditions for cultivation of the cells were selected, analytical quantity of a goal enzyme was obtained, the molecular mass of laccase subunits were determined (50 and 35 kDa) and their physical chemical properties were studied.

Грибні лаккази привертають значну увагу через їх здатність брати участь у трансформації широкого спектра фенольних сполук, у тому числі полімерного лігніну і гумінових речовин. На сьогодні близько 100 різних препаратів ферментів було виділено з культур грибів, очищено і охарактеризовано з точки зору їх біохімічних і каталітичних властивостей. Більшість грибних лакказ є мономерними, димерними або тетрамерними глікопротеїнами, які конститутивно продукуються. Той факт, що вони вимагають тільки молекулярний кисень для каталізу, робить їх придатними для біотехнологічного застосування.

Препарати грибних лакказ і їх іммобілізовані форми використовують у різних галузях промисловості, а саме в целюлозно-паперовій промисловості – для делігніфікації паперової пульпи, у текстильній промисловості – для відбілювання тканин, харчовій та косметичній промисловості – для детоксикації та знебарвлення стічних вод, що містять фенольні сполуки та інших галузей промисловості, в органічному синтезі, у виробництві миючих засобів, для створення антимікробних композицій, у процесі отримання деревоволокнистих плит, дерев'яних блоків і картону без застосування токсичних речовин, в імуноферментному аналізі, у процесі розробки катодів біопаливних елементів. Крім того, лакказа є важливим ферментом, який використовують у різних біотехнологічних процесах – у біосенсоріці, зокрема, для аналізу фенольних сполук у стічних водах промислових підприємств, а також для визначення антиоксидантної активності червоних вин.

В останні роки більше уваги приділяють пошуку нових продуцентів лакказ, у тому числі грибних, а також вивченню оксидаз з новими фізико-хімічними властивостями. Метою нашого дослідження було здійснити пошук нових продуцентів лаккази серед колекційних штамів мікроскопічних грибів. Для досягнення мети було здійснено скринінг штамів грибів за здатністю до синтезу лаккази та відібрано кращі продуценти позаклітинного ферменту – штами *Stachybotris chartarum* та *Monilinia fructicola*. Вперше показано здатність грибів *S. chartarum* і *M. fructicola* екскреторно продукувати лакказу. Оптимізовано умови культивування клітин *S. chartarum* і *M. fructicola*: найвищу активність позаклітинної лаккази спостерігали на другу та третю добу росту за умови культивування на середовищі, яке містило мальтозу або глюкозу як джерела карбону. Отримано в аналітичній кількості препарати фермента з клітин грибів *S. chartarum* і *M. fructicola*, досліджено їхні фізико-хімічні

властивості. Методом електрофорезу в поліакриламідному гелі встановлено молекулярні маси субодиниць позаклітинної лаккази (50 кДа та 35 кДа, відповідно).

Подяка. Роботу виконано за фінансової підтримки в рамках проекту МОН України «Дослідження нових композиційних матеріалів з іонно-синтезованими металевими наночастинками для сенсорики» та гранту FEMS-RG-2016-0097.

Басараб В.², Хархота М.², Авдєєва Л.¹, Воронкова О.¹, Вінніков А.¹

**АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ БАКТЕРІЙ РОДУ *BACILLUS*,
ВИДІЛЕНИХ З ПОВЕРХНІ РОСЛИН ЄГИПТУ**

¹Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара
просп. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ, 49050

²Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ
вул. Заболотного, 154, м. Київ, 03143

Basarab V., Kharkhota M., Avdeeva L., Voronkova O., Vinnikov A. ANTAGONISTIC ACTIVITY OF BACTERIA OF GENUS *BACILLUS*, ISOLATED FROM SURFACE OF PLANTS FROM EGYPT. The creation of probiotics, contained bacilli, is one of the prospects branches of microbial biotechnology. Bacilli are known as active antagonistic bacteria against opportunistic and pathogenic bacteria and also can syntheses different compounds with stimulating properties. In our research 10 strains of bacilli studied as potential components of probiotics. Antagonistic activity of these strains was studied against opportunistic bacteria. It was shown that 2 from studied strains had high antagonistic activity against 54.6% of test-strains of opportunistic bacteria.

У наш час існує чимало пробіотиків, але в останні роки приділяється багато уваги бактеріям роду *Bacillus*, що є перспективними для включення до складу пробіотичних препаратів. Ці бактерії є грампозитивними спороутворюючими хемоорганотрофними аеробами або факультативним анаеробами, в більшості сапрофіти, але є й патогенні для людини та тварин види. Виділяють їх переважно з ґрунту, але вони трапляються також у воді, повітрі, на поверхні рослин і тіла тварин. Такий інтерес до цих бактерій обумовлений їх високим антагоністичним потенціалом щодо патогенних мікроорганізмів, безпечністю застосування і особливо можливістю отримання нових корисних властивостей пробіотиками, наприклад, здатності синтезувати корисні для організму речовини.

Метою роботи було визначити наявність бактерій роду *Bacillus* у зразках рослин, привезених з Єгипту, та дослідити їх антагоністичну активність проти умовно-патогенних видів бактерій.

Ідентифікацію до роду *Bacillus* здійснювали на основі дослідження морфологічних і біохімічних ознак виділених штамів. Антагоністичну активність досліджували за допомогою тесту на відстрочений антагонізм щодо штамів умовно-патогенних видів бактерій, взятих з колекції Відділу антибіотиків Інституту мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України: *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* 904, *S. aureus* 4001, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* 906, *E. coli* 17, *Salmonella enterica*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* B-90C, *P. aeruginosa*, *Candida albicans*.

Зі зразків єгипетських рослин виділено 10 штамів бактерій роду *Bacillus* позначених як: *B. Eg11*₁, *B. Eg11*₂, *B. Eg11*₃, *B. Eg11*₄, *B. Eg11*₅, *B. Eg12*₁, *B. Eg13*₂, *B. Eg17*₃, *B. Eg16*₁ та *B. Eg16*₂.

До обох штамів *P. aeruginosa* і *C. albicans* всі виділені бацили не проявили або проявили дуже низьку антагоністичну активність, до *K. pneumoniae* – 30% штамів бацил проявили середню антагоністичну активність, а 70% – низьку, до *S. aureus* 904 – 20% – високоактивні, 30% – середньоактивні і 50% – низькоактивні, до *S. aureus* 4001 – 80% – високоактивні,

20% – низькоактивні, до *S. epidermidis* – 50% – високоактивні, 30% – середньоактивні і 20% – низькоактивні, до *E. coli* 906 – 20% – високоактивні, 10% – середньоактивні і 70% – низькоактивні, до *E. coli* 17 – 10% – високоактивні, 20% – середньоактивні і 70% – низькоактивні, до *S. enterica* – 10% – високоактивні, 10% – середньоактивні і 80% – низькоактивні, до *P. mirabilis* – 20% – високоактивні, 20% – середньоактивні і 60% – низькоактивні.

Отже, 8 з 10 виділених штамів не мають потенціалу для подальших досліджень, так як вони проявили високу антагоністичну активність лише проти 0-27,3% тест-культур. *B. Eg11₃* та *B. Eg 17₃* проявили високу антагоністичну активність проти 54,6% тест-культур і саме ці два штами мають перспективи для включення до складу пробіотика.

Бережанська Л., Оринчак Т., Звір Г., Гнатюш С., Мороз О.

**ДЕНІТРИФІКАЦІЯ ТА АМОНІФІКАЦІЯ БІЛКОВИХ РЕЧОВИН БАКТЕРІЯМИ
BACILLUS BREVIS B-14 В ТА *BACILLUS SUBTILIS* VKM B-428
ЗА ВПЛИВУ СУПЕРФОСФАТУ**

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: berezhanska@mail.com

Berezhanska L., Orynychak T., Zvir G., Hnatysh S., Moroz O. DENITRIFICATION AND DESTRUCTION OF PROTEINS BY BACTERIA *BACILLUS BREVIS* B-14 V AND *BACILLUS SUBTILIS* VKM V-428 UNDER THE INFLUENCE OF SUPERPHOSPHATE. It was studied the inhibitory effect of superphosphate at high concentrations on the biomass accumulation and destruction of proteins by bacteria *Bacillus brevis* B-14 V and *Bacillus subtilis* VKM V-428. The process of denitrification by bacteria of genus *Bacillus* appeared insensitive to the influence of superphosphate.

Мікроорганізми є надзвичайно важливим чинником родючості ґрунту. Наявність у ґрунтових екосистемах найрізноманітніших груп мікроорганізмів, які відрізняються біологічною та біохімічною специфічністю, обумовлює величезне їх значення у процесах, що відбуваються у ґрунті. Найбільше значення для ґрунтоутворення мають мінералізація органічних речовин, зміна рухливості фосфорних сполук (мобілізація та іммобілізація) і фіксація фосфору [Звягинцев, 2005].

Мобілізувати фосфор з важкорозчинних сполук феруму, алюмінію і кальцію здатні мікроорганізми багатьох видів [Курдиш, 2009]. Вони широко розповсюджені в агроєко-системах. Здатність мобілізувати фосфат з важкорозчинних сполук мають мікроорганізми родів *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Bacterium*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Burkholderia*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhodotorula*, сульфатвідновнювальні бактерії роду *Desulfobacterium* тощо [Булаченко, 2005]. Значна роль у процесі фосфатмобілізації належить також споруутворювальним бактеріям роду *Bacillus*.

Метою роботи було дослідити вплив суперфосфату на процеси денітрифікації та амоніфікації у бактерій *Bacillus brevis* B-14 В та *Bacillus subtilis* VKM B-428.

Бактерії вирощували у середовищі Зенгена у пробірках об'ємом 20 мл, вносячи 4 мл середовища і добриво за концентрацій 5 та 10 г/л (вихідна біомаса 0,05 г/л) протягом 2–3 діб за температури 28 °С за аеробних умов. Контролем було середовище Зенгена без добрива. У процесі культивування періодично визначали біомасу культури за мутністю розведеної суспензії клітин фотометруванням на фотоелектроколориметрі КФК-3; концентрацію NH_4^+ у середовищі визначали колориметричним методом, концентрацію фосфат-, нітрат- і нітрит-іонів – спектрофотометричним методом [Гудзь і співавт., 2014; Granger, 1996; Ivancic, 1984].

Дослідження впливу суперфосфату на нагромадження біомаси бактеріями *B. brevis* Б-14 В та *B. subtilis* ВКМ В-428 у середовищі Зенгена показало, що концентрація 5 г/л, якої виробники зазвичай рекомендують дотримувати, незначно стимулювала ріст досліджених культур, а вдвічі вища (10 г/л) чинила інгібувальну дію на ріст бактерій роду *Bacillus* на 26–28 %. За впливу суперфосфату за концентрації 5 г/л у бактерій *B. subtilis* ВКМ В-428, як і в *B. brevis* Б-14 В, відмічено стимулювання процесу амоніфікації, про що свідчило підвищення концентрації іонів амонію у культуральній рідині у 1,1–1,2 разу порівняно з контролем. За вдвічі вищої концентрації добрива процес амоніфікації у бактерій роду *Bacillus* інгібувався у 1,2–1,3 разу. Процес денітрифікації у бактерій роду *Bacillus* виявився нечутливим до дії суперфосфату.

Білянська Р., Горішний М., Гнатуш С.

**ВМІСТ ПІГМЕНТІВ У КЛІТИНАХ *CHLOROBIVM LIMICOLA* ІМВ К-8 ЗА ВПЛИВУ
ФАКТОРІВ СЕРЕДОВИЩА**

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського 4, м. Львів 79005, Україна
e-mail: m_gorishnyi@ukr.net

Bilyanska R., Horishnyi M., Hnatush S. THE CONTENT OF PIGMENTS IN *CHLOROBIVM LIMICOLA* IMB K-8 CELLS UNDER THE INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL FACTORS. We have established that the presence of intermediates and final products of Arnon cycle stimulates the accumulation of bacteriochlorophylls c and d in the cells of green sulfur bacteria. A special increase in the concentration of bacteriochlorophylls c and d and carotenoids chlorobactine and isorenieratene we observed under the terms of the simultaneous inhibition of gluconeogenesis and nitrogen fixation processes and the availability of low-carbon sources.

У різних частинах земної кулі за різноманітних кліматичних умов можна спостерігати розвиток фотосинтезувальних анаеробних сіркобактерій. Фотосинтезувальні зелені сіркові бактерії привертають увагу дослідників не лише як активні продуценти у харчових ланках середовищ, збагачених сполуками сульфуру, їх також використовують для вивчення організації фотосинтезуального апарату та механізмів фотосинтезу у прокаріот.

Метою роботи було дослідити деякі закономірності нагромадження пігментів у клітинах зелених сіркових бактерій *C. limicola* ІМВ К-8 за різних умов.

Встановлено, що органічні низькомолекулярні інтермедіати (ацетат, піруват, фумарат, гліцин, сукцинат, глутамат) проявляли стимулюючий ефект на вміст пігментів. Зокрема, найвищу концентрацію бактеріохлорофілів c та d спостерігали за умов внесення глутамату: концентрація бактеріохлорофілу c зросла на 58%, а бактеріохлорофілу d на 50 %. Найбільшу стимуляцію каротиногенезу спостерігали за умов внесення ацетату. Концентрація хлоробактину зростала на 71% порівняно з контролем (мінеральне середовище GSB), а ізореніратину на 50%.

Відомо, що зелені сіркові бактерії *C. tepidum*, за умов активної азотфіксації, нагромаджують катіони амонію і за взаємодії з глутаматом утворюють глутамін, що використовується у процесі біосинтезу протеїнів. Натомість за умов сповільнення процесів азотофіксації глутамат в основному використовується у процесах біосинтезу пігментів. Для перевірки цього припущення, щодо штаму *C. limicola* ІМВ К-8 нами було проведено інкубацію відмитих клітин за умов внесення інгібітора азотофіксації у зелених сіркобактерій – нітрат аніону. Після 48 годин інкубації визначали кількісні зміни вмісту білка та пігментів у клітинах досліджуваного штаму. Встановлено стимулюючий ефект глутамату за умов інгібування азотофіксації на біосинтез бактеріохлорофілів c і d. Зокре-

ма їх кількість порівняно з контролем зросла на 50 і 75% відповідно. Проте, за цих умов інкубації концентрація білка в клітинах знизилась майже в чотири рази. Спостерігали зростання вмісту хлоробактину та ізренієратину на 10%.

Внесення у середовище інтермедіатів (ацетату і пірувату) та кінцевих продуктів циклу Арнона (фумарату і сукцинату) стимулює нагромадження бактеріохлорофілів *c* та *d* у клітинах зелених сіркових бактерій. Зростання вмісту бактеріохлорофілів *c* та *d*, а також каротиноїдів хлоробактину й ізренієратину спостерігали за умов одночасного інгібування процесу азотофіксації і наявності низькомолекулярних джерел карбону.

Вовк В., Масловська О., Гнатюш С.

ПОКАЗНИКИ ПЛИННОСТІ МЕМБРАНИ КЛІТИН *DESULFUROMONAS ACETOXIDANS* IMB B-7384 ЗА ВПЛИВУ ФЕРУМ (III) ЦИТРАТУ ТА НАТРІЙ ЦИТРАТУ
Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: viktoria.vovk19@gmail.com

Vovk V., Maslovska O., Hnatush S. INDEXES OF MEMBRANE FLUIDITY OF *DESULFUROMONAS ACETOXIDANS* IMB B-7384 CELLS UNDER THE INFLUENCE OF FERRIC CITRATE AND SODIUM CITRATE. The aim of this work was to investigate indexes of membrane fluidity under the influence of different concentrations of ferric (III) citrate and sodium citrate. Addition of ferric (III) citrate to the cultural medium caused decreasing of membrane fluidity of *D. acetoxidans* IMB B-7384 cells under the influence of all investigated concentrations of metal salt compared with control, while addition of sodium citrate caused an increasing of membrane fluidity under the influence of all investigated concentrations of metal salt. Investigation of defense mechanisms of *D. acetoxidans* IMB B-7384 cells, to stress conditions, in particular to increasing concentrations of heavy metals, are important for understanding the ways of regulating the metabolism of bacteria. Changes in fatty acid composition of lipids is considered as one of the possible ways to protect the bacterial cells from stressed conditions.

Зміни жирнокислотного складу ліпідів розглядають як один із можливих способів захисту бактерійної клітини за умов стресу. Відомо, що сполуки феруму можуть спричиняти окисдаивний стрес у *D. acetoxidans* IMB B-7384 (Масловська, 2014). Метою нашої роботи було визначити показники плинності мембрани клітин *D. acetoxidans* IMB B-7384 за впливу різних концентрацій ферум (III) цитрату та натрій цитрату. *D. acetoxidans* культивували у модифікованому середовищі Постегіта С (без внесення сульфатів). Донором та акцептором електронів був фумарат. Для дослідження впливу ферум цитрату на плинність жирних кислот клітин *D. acetoxidans* IMB B-7384 у культуральне середовище вносили 10–20 мМ солі металу, у контроль ферум (III) цитрат та натрій цитрат не вносили. Оцінювали плинність мембран за індексом в'язкості та транс/цис індексом (Mazzella, 2004).

Внесення у середовище для культивування *D. acetoxidans* IMB B-7384 ферум (III) цитрату зумовило зниження транс/цис індексу мононенасичених жирних кислот за всіх досліджених концентрацій солі металу. За впливу ферум (III) цитрату у концентрації 20 мМ транс/цис індекс мононенасичених жирних кислот знижувався у 5,5 рази, порівняно з контролем. За внесення у середовище для культивування *D. acetoxidans* IMB B-7384 натрій цитрату транс/цис індекс мононенасичених жирних кислот зростав зі збільшенням концентрацій солі металу. Внесення натрій цитрату у концентраціях 10–20 мМ зумовило зростання транс/цис індексу мононенасичених жирних кислот у 1,1–2,4 рази відповідно.

Індекс в'язкості поєднує ступінь насиченості і конфігурацію жирних кислот і жирних кислот з циклопропановим кільцем, які також підвищують плинність мембрани. Низьке значення цього індексу відображає високу плинність мембрани. Індекс в'язкості

мембрани *D. acetoxidans* IMB B-7384 за впливу ферум (III) цитрату зменшувався за всіх досліджених концентрацій солі металу. Зі збільшенням концентрації ферум (III) цитрату до 20 мМ індекс в'язкості зменшився у 2,6 рази порівняно з контролем. Середня довжина карбонового ланцюга жирних кислот за впливу ферум (III) цитрату практично не змінювалася порівняно з контролем. Внесення у середовище для культивування клітин *D. acetoxidans* IMB B-7384 натрій цитрату зумовило зростання індексу в'язкості мембрани за всіх досліджуваних концентрацій солі металу. Індекс в'язкості мембран *D. acetoxidans* IMB B-7384 зростає зі збільшенням концентрації солі металу. Середня довжина карбонового ланцюга жирних кислот клітин *D. acetoxidans* IMB B-7384 за впливу натрій цитрату не змінювалася порівняно з контролем.

Возна М., Горінь Т., Горішний М.

ДЕЯКІ ОСОБЛИВОСТІ НАГРОМАДЖЕННЯ ВУГЛЕВОДІВ
У КЛІТИНАХ *CHLOROBIVM LIMICOLA* IMB K-8

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: m_gorishniy@ukr.net

Vozna M., Horin T., Horishnyi M. SOME CARBOHYDRATE ACCUMULATION SPECIAL FEATURES IN *CHLOROBIVM LIMICOLA* IMB K-8. It was defined that if there are organic carbon sources (pyruvic acid, acetate, isocitrate and α -ketoglutarate) in the environment the cells differ from each other in the way of CO_2 photoassimilation. So maximum cell growth and double increasing of the glycogen level in the cells were observed at 60 mM concentration of NaHCO_3 in the medium. But under condition of mineral deficiency and addition of organic carbon sources concentration of NaHCO_3 in the medium reduced to 48 mM and was accompanied by cell growth decrease, and synchronous increase of glycogen level in cells to about 120 mg / gram of cell.

Зелені бактерії – це група фотосинтезувальних мікроорганізмів, які в процесі росту нагромаджують глюкозу і глікоген. У природних мікробоценозах кількість зелених сіркобактерій незначна, тому досить актуальним є дослідження, що ведуть до оптимізації умов культивування цих мікроорганізмів. Метою нашої роботи було дослідити вплив факторів середовища на процеси нагромадження біомаси та ендогенних вуглеводів у клітинах *C. limicola* IMB K-8.

Описані в літературі штами зелених сіркових бактерій ростуть винятково фотолітоавтотрофно [Кондратьєва Е. Н. 1989]. Діоксид карбону у них редукується у відновному циклі трикарбонових кислот, який забезпечує клітини попередниками для біосинтезу клітинних компонентів, зокрема вуглеводів. Встановлено, що одночасне голодування за мінеральними компонентами середовища GSB призводить до стимулювання нагромадження глікогену у клітинах *C. limicola* IMB K-8. Натомість голодування за такими мінеральними компонентами із одночасним внесенням нітрат-іону у концентрації 4 мМ в інкубаційну суміш призводило до подвійного зростання вмісту глікогену порівняно із мінеральним середовищем GSB (контроль), що, очевидно, можна пояснити інгібуванням процесу протейногенезу.

Встановлено, що за наявності органічних джерел карбону (пірувату, ацетату, ізоцитрату та α -кетоглутарату) в середовищі спостерігають деякі відмінності у фотоасиміляції CO_2 клітинами. Так, за концентрації NaHCO_3 у середовищі 60 мМ спостерігали максимальне нагромадження біомаси і підвищений у два рази рівень глікогену у них. Натомість за умов мінерального голодування та внесення органічних джерел карбону, зменшення концентрації NaHCO_3 в середовищі до 48 мМ супроводжувалось зниженням біомаси, за одно-

часного зростання вмісту глікогену в клітинах приблизно до 120 мг/г сухої ваги. Подальше зменшення вмісту NaHCO_3 супроводжувалось різким зниженням біомаси клітин. Зростання рівня глікогену в клітинах при незначному дефіциті гідрокарбонату натрію в середовищі, очевидно, можна пояснити пригніченням реакції карбоксилювання фосфоенолпірувату в оксалоацетат і його використанням у конструктивному метаболізмі вуглеводів.

Слід зазначити, що за умов мінерального голодування, зниження концентрації гідрокарбонату натрію в середовищі, наявності різних джерел органічного карбону метаболізм зелених сіркових бактерій *C. limicola* IMB K-8 зміщується в бік конструктивного метаболізму вуглеводів.

Горошок Х.¹, Василів О.¹, Гнатюш С.¹, Мардаревич Р.²

**ГУСТИНА ПОТУЖНОСТІ ЕЛЕКТРИЧНОГО СТРУМУ
В ОДНОКАМЕРНІЙ БІОЕЛЕКТРОХІМІЧНІЙ СИСТЕМІ**

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна; k.horoshok@i.ua

²Фізико-механічний інститут імені Г.В. Карпенка
вул. Наукова 5, м. Львів, 79000, Україна

Horoshok Ch.¹, Vasylyv O.¹, Hnatysh S.¹, Mardarevych R.² POWER DENSITY OF ELECTRIC CURRENT OBTAINED IN ONE-CHAMBER BIOELECTROCHEMICAL SYSTEM. The optimized bioelectrochemical system has been constructed with the application of *D. acetoxidans* IMV V-7384 as the anode biocatalyst. At the application of 42 mM malate as the sole Carbon source the maximal values of power density equaled 7.13 ± 0.26 on 56 hour and 8.40 ± 0.21 on 322 hour of bacterial cultivation after the substitute of catholyte solution because of its decolorization.

Мікробні паливні елементи (МПЕ) як різновид біоелектрохімічних систем забезпечують генерування електричного струму в результаті окиснення органічних сполук мікроорганізмами. У МПЕ анод використовується як єдиний акцептор електронів у процесі анаеробного дихання мікроорганізмів. За цих умов в анодній камері повинні забезпечуватись анаеробні умови культивування мікроорганізмів, тоді як у катодній камері підтримуються аеробні умови. Катодна і анодна камера розділені протон-обмінною мембраною. Перенесення електронів на поверхню аноду в результаті мікробного екзоелектрогенезу є ключовим процесом для генерування електричного струму в МПЕ. Сірководновлювальні бактерії *Desulfuromonas acetoxidans* повністю окиснюють такі органічні сполуки, як фумарат, пропіонат, етанол, ацетат і малат та володіють екзоелектрогенними властивостями (Bilyu, 2013). Максимальне значення величини електричного струму ($10,07 \pm 0,17$ мВт/м²) у сконструйованому двокамерному МПЕ отримано за внесення 42 мМ малату ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$) в середовище культивування *Desulfuromonas acetoxidans* IMB V-7384, порівняно із застосуванням інших джерел карбону, зокрема сукцинату, пірувату та фумарату (Vasylyv, 2015). Розроблено однокамерний МПЕ та зменшено об'єм аноліту і площу електродів відповідно у 6 та 8 раз, порівняно із двокамерною біоелектрохімічною системою.

Метою роботи було дослідити генерування електричного струму бактеріями *D. acetoxidans* IMB V-7384 в оптимізованому однокамерному МПЕ за внесення 42 мМ малату в середовище культивування.

Анодна та катодна камери однокамерного МПЕ були розділені протон-обмінною мембраною (Millipore, розмір пор – 0,20 мкм), площа якої 44 см². Площа аноду 16 см². Об'єм анодної та катодної камер були відповідно 50 мл та 250 мл. Як аноліт застосовували дводобову культуру бактерій *D. acetoxidans* IMB V-738, вирощених у середовищі Постгейта С, тоді як католітом був 0,1% розчин KMnO_4 . Як джерело карбону в анодну камеру вносили малат у концентрації 42 мМ. Бактерії культивували у МПЕ двадцять діб.

Встановлено, що максимальна густина потужності електричного струму в МПЕ за внесення малату як єдиного донора електронів становила $7,13 \pm 0,26$ мВт/м² на 56 год культивування *D. acetoxidans* IMB B-7384. Зі збільшенням тривалості вирощування досліджуваних бактерій до 306 год величина густини потужності електричного струму зменшилась у 3 рази, порівняно із її найвищим отриманим значенням. Заміна 0,1% розчину KMnO₄ на 322 год культивування бактерій внаслідок його знебарвлення призвела до підвищення величини густини потужності МПЕ до $8,40 \pm 0,21$ мВт/м². Це свідчить про відновлення католіту та ефективність процесу екзоелектрогенезу в розробленому МПЕ за наведених умов.

Отже, застосування 42 мМ малату у розробленому однокамерному МПЕ забезпечує генерування електричного струму протягом двадцяти діб культивування *D. acetoxidans* IMB B-7384, що супроводжується інтенсивним відновленням католіту.

Гуменюк І., Бровко І., Грузинський С.

**ОЦІНКА АЗОТФІКСУВАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ СИМБІОТИЧНОГО АПАРАТУ СОЇ
СОРТУ МОРАВІЯ У ЗОНІ ЛІСОСТЕПУ**

*Інститут агроєкології і природокористування України НААН
вул. Метрологічна 12, м. Київ, 03143, Україна
e-mail: gumenyuk.ir@gmail.com*

Gumenuik I., Brovko I., Gruzinskii S. EVALUATION OF NITROGEN FIXING ACTIVITY OF MORAVIA SOYBEAN SYMBIOTIC SYSTEM IN THE FOREST-STEPPE ZONE. Using the facts that legoglobin is a catalyst for the assimilation of atmosphere nitrogen, and the activity of nitrogen fixation depends on its presence in nodules. Evaluation method of the nitrogen-fixing activity is based on measuring the concentration of this pigment in the homogenized material of nodules.

Серед важливих показників ефективності функціонування бульбочок сої є накопичення пігменту леоголобіну. Аналогічного з гемоглобіном у крові людини, що здатний оборотно зв'язувати кисень він, вірогідно, знаходиться у цитоплазмі рослинних клітин, а не у просторі між бактероїдами та мембранами, що їх оточують. Утворення такого пігменту є особливим результатом симбіозу бульбочкових бактерій з бобовими рослинами [Sainz, 2015].

В основі лежить фотоколориметричне визначення вмісту пігменту леоголобіну у бульбочках рослин сої. Виділяють три ступені активності азотфіксації: висока, середня та низька. Бобові рослини володіють здатністю фіксувати атмосферний азот, одночасно ґрунт насичується доступними елементами нітратного живлення для рослин та підвищує його родючість.

Відомий спосіб прогнозування азотфіксувальної активності бобових культур, передбачає візуальний аналіз стану бульбочок, розміщених на кореневій системі рослин сої. При цьому наявність крупних бульбочок рожевого або червоного кольору свідчить про високу активність симбіотичного апарату сої. Якщо бульбочки маленькі, а також мають зелений або бурий колір, це може свідчити, що у них немає азотфіксувального пігменту леоголобіну, який і надає їм потрібного забарвлення, а азотфіксування у таких рослинах низьке або взагалі немає. Однак, наведений спосіб, який базується лише на візуальних ознаках залишається необ'єктивним [Marino, 2013].

Азотфіксувальний пігмент – леоголобін є каталізатором процесу засвоєння атмосферного азоту, а також від його наявності у бульбочках залежить активність азотфіксації. Метод оцінки азотфіксувальної активності бобових культур, базується на вимірюванні концентрації пігменту у гомогенаті бульбочок, сформованих на коренях 30-денних бобових рослин сої.

Про вміст левоглобіну та активність азотфіксації роблять висновки за показниками коефіцієнту екстинкції. При цьому виділяють три ступені активності азотфіксації: висока (0,750 і вище), середня (0,501–0,749) та низька (0,500 і нижче).

Досліджувана ділянка поля Хмільницького району Вінницької області, на якій було висіяно сою середньостиглого сорту Моравія, у ході експерименту була поділена на 8 рівних частин. У потрібний момент було проведено відбір 10 рослин з кожної такої ділянки. У результаті проведених досліджень вибірка рослин 3 та 5 ділянок характеризувалася найбільшим вмістом левоглобіну, вміст якого у гомогенізованій речовині становив 0,734 та 0,711 відповідно. Такий метод оцінки азотфіксувальної активності дозволяє визначити у подальшому рівень вмісту біологічного нітрогену, який накопичується у ґрунті рослинами сої за період вегетації.

Отже, через пряму залежність показників, таких як азотфіксувальний пігмент та кількість фіксованого N_2 рослинами сої, на заданих ділянках кількість нітрогену знаходилася в межах 125–130 кг/га.

Дяків С., Гнатюш С., Бригілевич О., Семенина О.

**СУЛЬФУРРЕДУКТАЗНА АКТИВНІСТЬ *DESULFUROMUSA* SP. SV30
ТА *GEOBACTER* SP. SV35**

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: kuzmishyna_s_@ukr.net

Diakiv S., Hnatysh S., Brygilevych O., Semenyna O. SULFUR REDUCTASE ACTIVITY OF *DESULFUROMUSA* SP. SV30 AND *GEOBACTER* SP. SV35. The study of sulfur reductase activity of bacteria *Desulfuromusa* sp. SV30 and *Geobacter* sp. SV35, isolated from coal pits waste heaps of Chervonograd minig region, was conducted. The highest rate of sulfur reductase activity was in culture fluid of bacteria under conditions: for *Desulfuromusa* sp. SV30 – under pH 7.5–9.0 and temperature 20–40 °C (55.60–39.50 $\mu\text{M H}_2\text{S/min.} \times \text{mg protein}$), for *Geobacter* sp. SV35 – under pH 6.0 and temperature 20°C (till 81.93 $\mu\text{M H}_2\text{S/min.} \times \text{mg protein}$).

Сіркове дихання повним окисненням субстратів із утворенням діоксиду карбону здійснюють анаеробні бактерії родів *Desulfuromonas*, *Desulfurella*, *Desulfuromusa*, *Geobacter*, *Pelobacter* [Liesack and Finster, 1994; Hedderich et al., 1998]. Відновлення сірки забезпечують локалізовані у цитоплазматичній мембрані сульфурредуктаза (КФ 1.97.1.3) та полісульфідредуктаза (КФ 1.12.98.4), які зв'язані через цитохроми чи хінони з гідрогеназою.

Виділені та ідентифіковані нами із порід відвалів вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району бактерії *Desulfuromusa* sp. CB30 та *Geobacter* sp. CB35 зі сполук сульфуру відновлюють лише елементну сірку [Diakiv et al., 2016]. Утворений у процесі дисиміляційної сіркоредакції водень сульфід утворює важкорозчинні сульфідні з йонами важких металів (ВМ), що робить перспективним дослідження механізмів зниження рухомості ВМ у поровому розчині порід. Метою роботи було дослідити сульфурредуктазну активність бактерій *Desulfuromusa* sp. CB30 та *Geobacter* sp. CB35.

Визначення сульфурредуктазної активності проводили за описаним методом [Sugio et al., 1994; Чайка та ін., 2016] у культуральній рідині бактерій, осадовій та розчинній фракціях безклітинного екстракту. Найвищою сульфурредуктазна активність у культуральній рідині була на шосту добу як у *Desulfuromusa* sp. CB30 (35 $\mu\text{M H}_2\text{S/хв} \times \text{мг білка}$), так і у *Geobacter* sp. CB35 (27 $\mu\text{M H}_2\text{S/хв} \times \text{мг білка}$). В осадовій фракції *Desulfuromusa* sp. CB30 та *Geobacter* sp. CB35 ензиматична активність була у 3 та 1,5 разу відповідно нижча, ніж у культуральній рідині. Сульфурредуктазна активність розчинної фракції неклітинного екстракту обох штамів низька (6 та 7 $\mu\text{M H}_2\text{S/хв} \times \text{мг білка}$ відповідно).

Дослідили вплив рН та температури на сульфурредуктазну активність. У *Desulfuromusa* sp. CB30 сульфурредуктазна активність була найвищою у діапазоні рН 7,5–9,0 (від $55,60 \pm 9,67$ до $39,50 \pm 5,88$ мкМ $\text{H}_2\text{S}/\text{хв} \times \text{мг}$ білка). У *Geobacter* sp. CB35 чітко виражений пік активності відмітили за рН 6,0 ($81,93 \pm 15,31$ мкМ $\text{H}_2\text{S}/\text{хв} \times \text{мг}$ білка). Досліджені штами відрізнялись також температурними оптимумами ензиматичної активності: у *Desulfuromusa* sp. CB30 – за температури 20–40 °C, а у *Geobacter* sp. CB35 – за 20 °C із подальшим різким зниженням у 2 рази за 30 °C та у 9 разів – за 40 °C. Проведений однофакторний дисперсійний аналіз засвідчив суттєвий і достовірний вплив рН і температури на сульфурредуктазну активність бактерій.

За температури 30 °C і рН 7,5 Км сульфурредуктази *Desulfuromusa* sp. CB30 становить $0,09 \pm 0,02$ мкМ, $V_{\max}$ $67,58 \pm 9,13$ мкМ $\text{H}_2\text{S}/\text{хв} \times \text{мг}$ білка, а для бактерій *Geobacter* sp. CB35 Км становить $1,32 \pm 0,18$ мкМ, $V_{\max}$ $178,57 \pm 27,55$ мкМ $\text{H}_2\text{S}/\text{хв} \times \text{мг}$ білка, що вказує на високу спорідненість сульфурредуктаз обох штамів до субстрату.

Отже, бактерії *Desulfuromusa* sp. CB30 і *Geobacter* sp. CB35 мають високу сульфурредуктазну активність та спорідненість ферменту до елементної сірки як субстрату.

Дяків С., Гнатюш С., Припін О., Мороз О.

ВПЛИВ СПОЛУК ХРОМУ, КУПРУМУ ТА ФЕРУМУ ЗА ЇХ НАЯВНОСТІ У
СЕРЕДОВИЩІ КУЛЬТИВУВАННЯ НА НАГРОМАДЖЕННЯ БІОМАСИ ТА
СУЛЬФІДОГЕННУ АКТИВНІСТЬ *DESULFUROMUSA* SP. CB30

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: kuzmishyna_s_@ukr.net

Diakiv S., Hnatush S., Prypin O., Moroz O. THE INFLUENCE OF CHROMIUM, COPPER AND IRON COMPOUNDS IN CONDITIONS OF THEIR PRESENCE IN GROWTH MEDIUM ON BIOMASS ACCUMULATION AND SULFIDOGENIC ACTIVITY OF *DESULFUROMUSA* SP. SV30. Addition of 0.5 mM CuCl_2 into growth medium of *Desulfuromusa* sp. SV30 causes in 1.5 times higher biomass accumulation and 0.9 mM of residual hydrogen sulfide production compared to the control. Addition of 1 mM $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$ leads to slight increase of biomass accumulation. The exceeding of indicated concentrations of metals causes inhibitory effect on the cells. The addition of reduced metals compounds into growth medium also inhibits bacteria growth besides hydrogen sulfide binding with metal sulfides formation.

Здатні до дисиміляційної металоредукції сірковідновлювальні бактерії впливають на біогеохімічні цикли металів [Nevin and Lovley, 2000; Lovley, 2002], відновлюючи їх до менш токсичних сполук, що супроводжується вивільненням значної кількості електронів у середовище [Lovley, 2006; Richter et al., 2012; Bilyu et al., 2014]. Крім того, утворений у ході дисиміляційної сіркоредакції гідроген сульфід осаджує йони важких металів у формі нерозчинних сульфідів [Lovley, 1994].

Відомо, що *Desulfuromusa ferrireducens* використовують сполуки феруму (III) та манган (IV) оксид, а *Desulfuromusa kysingii* – лише ферум (III) як термінальні акцептори електронів [Liesack and Finster, 1994; Vandieken et al., 2006]. Виділені нами із породних відвалів вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району бактерії *Desulfuromusa* sp. CB30 відновлюють сполуки мангану, хрому, купруму і феруму [Diakiv et al., 2016]. Відповідно до попередньо отриманих нами даних, годинна інкубація *Desulfuromusa* sp. CB30 зі сполуками металів зумовлює інтенсифікацію метаболізму бактерій за впливу 0,5 та 1–2 мМ сполук хрому та купруму відповідно, 1 мМ – феруму (II) та 1–30 мМ – феруму (III) [Дяків, Припін, 2016]. Тому наступним завданням було дослідити вплив сполук важких металів на нагромадження біомаси і сульфідогенну активність *Desulfuromusa* sp. CB30 за їх наявності у середовищі культивування.

Бактерії *Desulfuromusa* sp. CB30 вирощували у модифікованому середовищі Постагейта С без сульфатів із S^0 (контроль), S^0 та сполуками металів, які вносили відповідно до їх вмісту у породах відвалів: $CrCl_3 \times 6H_2O$ або $K_2Cr_2O_7$ – за концентрацій 0,5, 1 та 2 мМ; $CuCl_2$ – 0,5, 1 та 2 мМ; $FeCl_2 \times 4H_2O$ або $C_6H_5O_7Fe$ – 1, 5 та 10 мМ. На 8 добу визначали біомасу бактерій та вміст гідроген сульфідів [Sugiyama, 2002], не зв'язаного йонами металів.

Встановили, що внесення 0,5–2 мМ $CrCl_3 \times 6H_2O$ або $K_2Cr_2O_7$ до середовища культивування інгібувало як нагромадження біомаси (у 2,2–2,3 рази, порівняно з контролем), так і сіркоредакцію *Desulfuromusa* sp. CB30. Внесення до середовища 0,5 мМ $CuCl_2$ сприяло накопиченню бактеріями у 1,5 рази вищої біомаси, ніж у контролі, та утворенню 0,9 мМ залишкового (не зв'язаного з йонами металу) гідроген сульфідів. Збільшення концентрації $CuCl_2$ інгібувало накопичення біомаси до 2 разу, та знижувало утворення H_2S . Зі збільшенням концентрації $FeCl_2 \times 4H_2O$ у середовищі до 10 мМ біомаса *Desulfuromusa* sp. CB30 поступово знижувалася до рівня 0,6 г/л. За внесення до середовища 1 мМ $C_6H_5O_7Fe$ спостерігали незначне підвищення біомаси. Наявність йонів феруму (II) і (III) у середовищі зумовила зниження вмісту вільного H_2S . Отже, за внесення у середовище з S^0 окиснених форм металів бактерії, очевидно, частково використовують їх як енергетично вигідніші акцептори електронів, накопичуючи вищу, ніж у контролі, біомасу за внесення 0,5 мМ $CuCl_2$ та 1 мМ $C_6H_5O_7Fe$. Внесені у середовище відновлені сполуки металів осаджуються утвореним бактеріями H_2S у формі сульфідів металів.

Єрмоленко Т. В., Гнатюк Т. Ю.

ПЕРСПЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ НАНОЧАСТОК БІОГЕННИХ МЕТАЛІВ ДЛЯ ОБМЕЖЕННЯ ПОШИРЕННЯ БАКТЕРІОЗІВ В УКРАЇНІ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська 64/13, м. Київ, 01601, Україна
e-mail: ermolenko_t@ukr.net

Yermolenko T., Gnatyuk T. PERSPECTIVES OF BIOGENIC METAL NANOSTRUCTURES TO LIMIT SPREADING PLANT BACTERIOSES IN UKRAINE. Widespread in the environment phytopathogenic bacteria cause significant damage to agriculture and cause heavy losses in plant cultivation, because of decreasing of crop capacity and quality of product. Development and implementation of using biogenic metal nanostructures is a perspective modern project for Ukrainian and world agriculture. Scientists believe that using of biogenic metal nanostructures, such as silver, copper, cerium, iron, and gold may minimize loss of productivity in conditions of development and spreading phytopathogenic bacteria.

Широко розповсюджені в навколишньому середовищі фітопатогенні бактерії завдають значної шкоди сільському господарству і спричиняють великі втрати в рослинництві – знижують врожайність та якість продукції. Розробка і впровадження нових технологій із використанням наночастинок біогенних металів є перспективним сучасним заходом, для українського та світового сільського господарства. Згідно літературних даних використання наночастинок біогенних металів, таких як срібла, міді, церію, заліза, золота, дозволяє мінімізувати втрати урожайності в умовах розвитку та розповсюдження фітопатогенних бактерій.

Метою цієї роботи був скринінг ефективних біогенних металів для створення композиційного препарату з метою захисту рослин від фітопатогенів.

Об'єктом дослідження були тест-культури: колекційні штами фітопатогенних бактерій, які уражують сільськогосподарські культури: *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas syringae* pv. *atropfaciens*.

Всі тест-культури використовували в дослідженні активності двох композицій. Перша – на основі йоду та селену і друга на основі 5 елементів Ag, Co, Cu, Bi, Se.

Інгібуючу дію на фітопатогени дослідних композицій на основі наночасток визначали крапельним методом та методом просочених дисків. Перевіряли вплив комплексної композиції на морфометричні показники при обробці насіння сої в умовах *in vivo*.

Для цього насіння сої було замочене у комплексі на основі наночасточок 5 біогенних елементів. Отримані нами результати показали, що дослідна композиція не лише не пригнічувала проростання насіння, а і здійснювала помірну стимулювальну дію. Так, у контрольному варіанті при обробці насіння водою проросло 80%, а при обробці препаратом спостерігали 100% проростання.

Отже, серією дослідів встановлено, що наночастки біогенних металів проявляють високу інгібуючу активність щодо фітопатогенів, особливо в композиції з декількох елементів. Препарати на основі наночасточок біогенних металів не проявляють токсичної дії на рослини, а проведені тепличні дослідження показали можливу позитивну дію препарату на насіння сої та їх проростання, для обмеження шкодочинності бактеріальних патогенів. Є потреба в подальших дослідженнях щодо визначення методів обробки насіння, вегетуючих рослин у відкритому ґрунті, підбору композицій наночасток біогенних металів.

Корбуш М., Корнієнко В., Акуленко І., Зелена П., Сергійчук Т., Толстанова А.

КІЛЬКІСТЬ ОКСАЛАТДЕГРАДУЮЧИХ БАКТЕРІЙ У ФЕКАЛЬНОМУ БІОПТАТІ ПРИ ВВЕДЕННІ ОКСАЛАТУ НАТРІЮ В РАЦІОН ХАРЧУВАННЯ ЩУРІВ

ННЦ «Інститут біології та медицини» КНУ ім. Тараса Шевченка
просп. Академіка Глушкова, 2, м. Київ, 03022, Україна
e-mail: korbush1313mari@gmail.com

Korbush M., Kornienko V., Akulenko I., Zelena P., Serhiychuk T., Tolstanova A. NUMBER OF OXALATE DEGRADING BACTERIA IN FECAL BIOPTATE AFTER APPLICATION OF SODIUM OXALATE IN THE DIET OF RATS. Oxalate metabolism in the organism depends on many factors, including the availability of oxalate degrading bacteria (ODB). Dependence of the ODB number on diet has individual character. Individuals who have no ODB can be attributed to the potential risk of hyperoxaluria.

Доведено, що надмірне накопичення в організмі оксалату натрію є основною причиною виникнення гіпероксалурії. Метаболізм оксалату в організмі людини та тварин залежить від багатьох факторів, в тому числі від наявності оксалатдеградуючих бактерій (ОДБ). Невідомо, як і коли відбувається колонізація шлунково-кишкового тракту ОДБ. Існують окремі повідомлення, що штучне введення ОДБ певною мірою може запобігати розвитку гіпероксалурії.

Метою роботи було дослідити кількісний вміст ОДБ в фекальному біоптаті тварин залежно від раціону харчування.

Щурам лінії Вістар (n=12) перорально вводили оксалат натрію в об'ємі 2 мг/кг протягом 14 діб. Кількість ОДБ визначали висіванням 0,1 мл з 10-кратних розведень фекального біоптату на високоселективне середовище Oxalate Medium, в якому єдиним джерелом карбону був NaOx (кількість г/л за прописом). Культивування проводили за анаеробних умов 10 діб за 37 °С.

Встановлено, що при звичайному харчуванні кількість ОДБ була в межах $1g\ 2,1\pm0,6-3,8\pm0,8\ KYO/г$, при цьому ОДБ виявлено у 67 % тварин. Після 7-денного введення розчину оксалату натрію кількість ОДБ бактерій у 34% тварин збільшилася до $1g\ 5,2\pm0,8\ KYO/г$. Після 14-ї доби введення розчину оксалату натрію кількість ОДБ збільшилась у

50% тварин, а у 17% – залишилась незмінною. Також слід зазначити, що у 20% з 42% тварин, у яких не було виявлено ОДБ за звичайного раціону, на 14 добу відмічали їх появу у концентрації $lg\ 2,2 \pm 0,8$ КУО/г.

Отже, залежність кількості ОДБ від раціону харчування носить індивідуальний характер і особи, у яких не виявлено ОДБ можуть належати до потенційної групи ризику розвитку гіпероксалурії і виникнення оксалатних конкрементів.

Кордупель Н., Перетятко Т.

ЗНИЖЕННЯ В'ЯЗКОСТІ НАФТИ ДРІЖДЖАМИ *CANDIDA PSEUDOTROPICALIS*

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

e-mail: nazarii.kordupel@gmail.com

Kordupel N., Peretyatko T. DECREASE OF OIL VISCOSITY BY *CANDIDA PSEUDOTROPICALIS* YEASTS. It was established that *C. pseudotropicalis* yeasts grow in Burkholder medium at the presence of dry oil. Oil concentration has significant influence on the biomass accumulation by *C. pseudotropicalis*. The highest biomass was at oil concentration 5 %. The highest protein content in *C. pseudotropicalis* cells was at the addition of pentadecane and *p*-aminobenzoic acid to the medium. *C. pseudotropicalis* in the medium with oil accumulate four times higher biomass under the conditions of aeration, compared to control.

У зв'язку зі зміною в пластових умовах об'єму нафти під дією розчиненого газу і температури густина її в пласті, звичайно, нижча густини сепарованої нафти. Відомі нафти, густина яких в пласті менше 500 кг/м^3 за густини сепарованої нафти 800 кг/м^3 . На величину густини нафти впливають температура, тиск та кількість розчиненого в ній газу. В'язкість нафти залежить також від складу і природи розчиненого газу. При розчиненні азоту в'язкість нафти збільшується, а при розчиненні вуглеводнів вона знижується тим більше, чим вища їх молекулярна маса. Практично в'язкість нафти в пластових умовах різних родовищ змінюється від багатьох сотень мПа·с до десятих долей мПа·с. На багатьох родовищах в'язкість пластових нафт настільки велика, що нафта залишається нерухомою навіть при високих градієнтах тиску. Через високу в'язкість нафти часто утруднюється її видобування.

Використання мікроорганізмів окремих компонентів нафти дозволило б, очевидно, зменшити її в'язкість, сприяючи тим самим ефективнішому її видобуванню. Тому, метою роботи було дослідити можливість використання дріжджів *Candida pseudotropicalis* для зменшення в'язкості нафти, відібраної із свердловин Старосамбірського родовища, окисненням окремих її компонентів.

Встановлено, що дріжджі *C. pseudotropicalis* добре ростуть у середовищі Беркгольдера за наявності зневодненої нафти. Концентрація нафти суттєво впливає на нагромадження біомаси *C. pseudotropicalis*. Найвищий рівень біомаси виявлено за концентрації нафти у середовищі 5%. За внесення у середовище пентадекану і *p*-амінобензойної кислоти виявлено найвищу концентрацію білка у клітинах *C. pseudotropicalis*. За умов аерації дріжджі *C. pseudotropicalis* нагромаджують у чотири рази більше біомаси у середовищі з нафтою порівняно з контролем.

Використання окремих компонентів нафти як джерела карбону дріжджами *C. pseudotropicalis* робить їх перспективними для зниження в'язкості нафти, відібраної із свердловин Старосамбірського родовища.

Коцюк А., Голембіовська С., Бамбура О.

СУМІСНИЙ РІСТ СТРЕПТОМІЦЕТІВ ТА ФІТОПАТОГЕННИХ БАКТЕРІЙ *PSEUDOMONAS SYRINGAE*

Інститут мікробіології і вірусології НАНУ, вул. Заболотного 154
Київ, МСП, ДО3680, Україна, тел.: 8 (044)522 67 62
e-mail: kotsyuk93@mail.ru

Kotsyuk A., Golembiowska S., Bambura O. COMBINED GROWTH OF STREPTOMYCETES AND PHYTOPATHOGENIC BACTERIA *PSEUDOMONAS SYRINGAE*. The growth of some *Streptomyces* spp. with *P. syringae* 8511 on the potato medium, S-medium and King's B is analyzed. All *Streptomyces* spp. have balanced the growth of bacteria on the potato medium in 7 days of combined cultivation. Peptone medium hasn't contributed to antagonism of *streptomyces* spp. against *P. syringae* 8511 except the single culture. After that much more likely antagonism of *streptomyces* spp. in combined cultivation with bacteria depends on the substrate.

Досліджено ріст деяких стрептоміцетів з *P. syringae* 8511 на картопляному, S-середовищі та King's B. Всі стрептоміцети нівелювали ріст бактерії на картопляному середовищі після 7 доби сумісного росту. Пептонні середовища не сприяли антагонізму стрептоміцетів проти *P. syringae* 8511, крім однієї культури. Тому, вірогідно, антагонізм стрептоміцетів при сумісному рості з бактерією залежить від субстрату.

Pseudomonas syringae – грамнегативні паличкоподібні бактерії, які виділяють з широкого спектру рослин, є причиною поширеного бактеріального захворювання, що уражує культурні рослини та бур'яни [Кіпріанова, 2005]. Тому пошук стрептоміцетів – продуцентів антибіотичних речовин проти *P. syringae* залишається важливою і актуальною проблемою мікробіології.

Дослідження антагоністичних властивостей ґрунтових ізолятів стрептоміцетів на ріст *P. syringae* 8511 методом блоків не дав ефективних результатів. Серед тисячі перевірених ізолятів лише один відсоток характеризувався слабким рівнем антагонізму до *P. syringae* 8511, що збігалось з даними літератури [Громико, 2014]. Причина низького рівня антагонізму стрептоміцетів на ці бактерії має науковий інтерес, так як вони відомі своїми антагоністичними властивостями. З іншого боку, синтез антибіотичних речовин стрептоміцетами активується сигнальними молекулами або регуляторами, що робить процес синтезу залежним від фактора проти якого направлений антагонізм. Для того щоб краще зрозуміти взаємодію цих двох організмів було вирішено дослідити їх сумісний ріст на трьох середовищах: картопляне [Семенов, 1978], пептоно-дріжджове (S-середовище) та оптимальне за даними літератури для росту *P. syringae* 8511 середовище King's B [Пасічник, 2009]. Було перевірено 106 культур ґрунтових ізолятів стрептоміцетів, які за попередніми характеристиками пригнічували деякі фітопатогенні бактерії. Їх семидобові культури уколом по 12–14 шт. вносили на бактеріальний агар чашок Петрі з культурою *P. syringae* 8511, титр якої 10^4 КУО. Для достовірності використовували п'ять аналогічних повторів. Враховуючи різницю росту мікроорганізмів та синтезу стрептоміцетами вторинних метаболітів, аналіз сумісного росту проводили після 4–14 діб культивування в термостаті за $t\ 28\ ^\circ\text{C}$.

Найліпше стрептоміцети з бактеріями розвивалися на картопляному середовищі і після 7 доби росту повністю витісняли бактерій. Причиною цього було не стільки синтез антибіотичних речовин, скільки наявність кращих, ніж *P. syringae* 8511 ферментативних систем на такому субстраті. Бактерії на картопляному середовищі розвивалися набагато гірше, ніж на пептоно-дріжджовому та середовищі King's B. На останніх відмічали значно гірший ріст внесених стрептоміцетів в титрі росту бактерій. Хоча одна культура стрептоміцетів в умовах сильного тиску фітопатогена проявляла невисокий антагонізм щодо нього.

Отже, в умовах сумісного росту досліджуваних мікроорганізмів основним фактором, що впливав на розвиток культур був субстрат на якому вони росли.

Лесько І., Максимів Н., Перетятко Т.

**СУЛЬФІДОГЕННА АКТИВНІСТЬ СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ,
ВИДІЛЕНИХ ІЗ КИШЕЧНИКА ЩУРІВ, ХВОРИХ НА ВИРАЗКОВИЙ КОЛІТ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: ira-borsukevych@ukr.net*

Lesko I., Maksymiv N., Peretyatko T. SULFIDOGENIC ACTIVITY OF THE SULFATE-REDUCING BACTERIA, ISOLATED FROM THE INTESTINE OF RATS WITH ULCERATIVE COLITIS. Bacteria, isolated from the distal part of large intestine, are characterized by the highest sulfidogenic activity in the medium with sulfate as the terminal electrons acceptor. Depending on the strain, they accumulate 1.5–3.5 mM of hydrogen sulfide in media with lactate, malate, pyruvate, stearate and acetate. Effectiveness of the utilization of sulfate by bacteria is proportional to the amount of produced hydrogen sulfide.

До нормального мікробіоценозу кишечника людини належать мікроорганізми родів *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Escherichia*, *Eubacterium*, *Enterococcus*, *Atopobium*, *Clostridium*, тощо. Деякі дослідники вважають, що важливим компонентом мікробіоценозу також є сульфатвідновлювальні бактерії родів *Desulfovibrio*, *Desulfobulbus*, *Desulfobacter*, *Desulfomonas* і *Desulfotomaculum*, суттєве підвищення чисельності яких часто виявляють у людей із ревматичними захворюваннями, з анкілозуючим спондилітом тощо. Припускають також, що сульфатвідновлювальні бактерії можуть бути причиною розвитку виразкового коліту, деяких форм раку прямої кишки у зв'язку з утворення гідроген сульфід, який негативно впливає на метаболізм клітин кишечника і спричиняє виникнення різноманітних захворювань. Кількість сульфатвідновлювальних бактерій у кишечнику людини залежить від раціону харчування й за наявності більше 15 ммоль їхня чисельність у кишечнику може збільшуватись на три порядки, що спричиняє надмірне продукування гідроген сульфід у цьому біотопі й, відповідно, призводить до розвитку виразкового коліту.

Метою роботи було дослідити сульфідогенну активність сульфатвідновлювальних бактерій, виділених з різних відділів кишечника щурів, хворих на виразковий коліт, за різних умов культивування.

З дванадцятипалої кишки, дистального відділу тонкої кишки, проксимального і дистального відділів товстої кишки щурів, хворих на виразковий коліт, виділено 15 штамів сульфатвідновлювальних бактерій, які згідно визначника Берджі ідентифіковані як представники родів *Desulfotomaculum*, *Desulfobulbus*, *Desulfomicrobium*, *Desulfovibrio*, *Desulfomicrobium* і *Desulfotomaculum*.

У середовищі з сульфатом, як кінцевим акцептором електронів, бактерії, виділені з дистального відділу товстої кишки характеризуються найвищою сульфідогенною активністю. Вони, залежно від штаму, у середовищах з лактатом, малатом, піруватом, стеаратом та ацетатом нагромаджують 1,5–3,5 мМ гідроген сульфід. Ефективність використання бактеріями сульфату є прямо пропорційна кількості утвореного гідроген сульфід. Бактерії, виділені з проксимального відділу товстого кишечника найефективніше використовують сульфати у середовищі з малатом. Підвищення концентрації донора і акцептора електронів супроводжується зростанням сульфідогенної активності виділених штамів сульфатвідновлювальних бактерій.

Марунишин С., Василів О., Гнатюх С., Ференсович Я., Білий О.

**ГЕНЕРУВАННЯ ЕЛЕКТРИЧНОГО СТРУМУ В МІКРОБНОМУ ПАЛИВНОМУ
ЕЛЕМЕНТІ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ВОД НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Університетська, 1, м. Львів, 79000, Україна
e-mail: marunishyn_sd@ukr.net*

Marunishyn S., Vasylyv O., Hnatysh S., Ferensovych Ja., Bilyy O. ELECTRIC CURRENT GENERATION IN A MICROBIAL FUEL CELL WITH THE APPLICATION OF ENVIRONMENTAL WATER. Power generation in a microbial fuel cell (MFC) has been observed under the application of *D. acetoxidans* IMV B-7384 as the anode biocatalyst and organically polluted water from the natural environment as the anolyte. It was shown that at application of dissolution 100 ml bacterial suspension: 200 ml of investigated water in the constructed MFC the power generation was lower in comparison with the application of 200 ml bacterial suspension: 100 ml of investigated water.

Генерування електричної енергії з відновних ресурсів без викиду діоксиду карбону в атмосферу є одним із основних завдань альтернативної енергетики. Мікробні паливні елементи (МПЕ) відображають новий підхід до отримання електроенергії, що полягає у генеруванні електричного струму мікроорганізмами. Стічні води володіють енергетичним потенціалом внаслідок високої концентрації біоперетворювальних органічних сполук. МПЕ відображають новий ефективний метод очищення стічних вод із одночасним утворенням електроенергії. Використання рідинних відходів виробництва як субстрату для МПЕ дозволить зменшити витрати щодо їх аерації та видалення твердих речовин, що є найбільш енергозатратними процесами очищення стічних вод.

Метою роботи було дослідити генерування електричного струму бактеріями *Desulfuromonas acetoxidans* IMV B-7384 із застосуванням води навколишнього середовища у двокамерному мікробному паливному елементі. Анодна та катодна камери МПЕ, об'єм яких становив 0,3 л, були розділені протон-обмінною мембраною (Millipore, розмір пор – 0,20 мкм) з діаметром 2,5 см. Для досліджень використовували дводобову культуру бактерій *D. acetoxidans* IMV B-7384, вирощених у середовищі Постгейта С. Як аноліт застосовували збагаченою органікою воду із довкілля, що вносили в анодну камеру у розведеннях 100 мл суспензії бактерій: 200 мл води та 200 мл суспензії бактерій: 100 мл води. Початкова біомаса *D. acetoxidans* IMV B-7384 була 0,231 г/л і 0,297 г/л відповідно. Як католіт використовували 0,1% розчин KMnO_4 . Тривалість культивування досліджуваних бактерій у МПЕ при проведенні досліджень становила 20 діб.

При вирощуванні *D. acetoxidans* IMV B-7384 в МПЕ у розведенні 100 мл суспензії бактерій: 200 мл досліджуваної води початкова густина потужності електричного струму становила $1,18 \pm 0,06$ мВт/м². Найвище значення густини потужності ($2,36 \pm 0,19$ мВт/м²) було отримано на 16 год (перша доба) культивування за цих умов. При збільшенні тривалості культивування бактерій до дев'ятох діб зафіксовано зниження величини густини потужності МПЕ. Генерування електричного струму знизилося на 24% порівняно з максимальним отриманим значенням за наведених умов на 480 год (двадцятьа доба) вирощування *D. acetoxidans* IMV B-7384.

За внесення у МПЕ розведення 200 мл суспензії бактерій: 100 мл досліджуваної води як аноліту початкова густина потужності становила $1,95 \pm 0,10$ мВт/м². Найвище її значення – $3,58 \pm 0,22$ мВт/м² зафіксовано на другу добу культивування за наведених умов. Зі збільшенням тривалості культивування досліджуваних бактерій густина потужності знижувалася. Отже, зростання вихідної концентрації клітин *D. acetoxidans* IMV B-7384 в анодній камері МПЕ призводить до підвищення генерування електричного струму за

внесення води навколишнього середовища. Ймовірно, зростання концентрації органічного забруднення середовища призводить до пригнічення поділу досліджуваних клітин і відповідно, зниження генерування електричного струму. Отримані результати свідчать про те, що використання води навколишнього середовища у розробленій конструкції мікробного паливного елементу призводить до генерування електричного струму. Отже, ймовірно, використання стічних вод у масштабних конструкціях біоелектрохімічних систем із використанням *D. acetoxidans* IMB B-7384 як анодного біокаталізатора призводитиме до їх одночасного очищення від органічного забруднення із генеруванням електричного струму.

Нікольський С., Тищенко О., Гутич І.

**КЛІНІКО-ІМУНОЛОГІЧНИЙ СТАТУС ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ
З МІКРОАНГІОПАТІЄЮ ТА ІНФЕКЦІЙНИМИ УСКЛАДНЕННЯМИ**

¹ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН»

вул. Вишгородська, 67, м. Київ, 04114, Україна

²Educational and Scientific Center "Institute of Biology," Taras Shevchenko National
University in Kiev, ave. Akademika Glushkova, 2, Kiev, 03022, Ukraine

e-mail: nikolskayav@mail.ru

Nikolsky S., Tishchenko A., Hutyh I. CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL STATUS OF DIABETES PATIENTS WITH MICROANGIOPATHY AND INFECTIOUS COMPLICATIONS. The immune status of diabetes patients with microangiopathy is characterized by a significant inclusion in the pathogenesis of diseases of the immune system. It changes over time, depending on the factors inherent in certain stages of the process. Components of functional and structural changes include the signs of chronic inflammation, acute phase response, activation of T-cell and natural cytotoxicity.

Підвищена частота інфекційних ускладнень у хворих на цукровий діабет обумовлена імунними дисфункціями [Geerling S.E., Hoepelman I.M., 1999]. Зазначене відноситься і до внутріклітинних інфекцій. При цьому у хворих спостерігають ознаки хронічного запального процесу [Зак К.П. и соавт., 2013; Hodgson R. et al., 2014]. Отримані переконливі свідчення тригерної ролі в етіології і патогенезу діабету бактеріальної інфекції кишковика [Korsgren S. et al., 2012], а в слизовій оболонці тонкої кишки виявили високу активність основного прозапального цитокіну IL-17 [Lahdenpera A. et al., 2012], що разом узятє дозволяє припустити суттєвий внесок у розвиток імунопатогенезу діабету і його ускладнень імунімікробіологічного стану тонкого кишковика.

Враховуючи велику роль у цій патології протиінфекційного імунітету, очевидно, що вивчення імунного статусу є корисним для оцінки клінічного перебігу і ефективності лікування захворювання. Але треба прийняти до уваги, що зміни імунного статусу у діабетичних хворих з мікроангіопатією складаються з тих, які притаманні аутоімунному процесу.

У проведених дослідженнях вихідний імунний статус переважної більшості хворих характеризувався суттєвим відхиленням від норми багатьох показників. Здебільшого спостерігали значне збільшення ШОЕ, позитивний СРБ, нейтрофільний лейкоцитоз, іноді еозинофілія, виражена лімфоцитоз-, CD3⁺-, CD20⁺-, CD4⁺-, CD16⁺-пенія із підвищенням кількості Т-клітин-супресорів, зниження адгезивної і проліферативної активності Т-лімфоцитів, а також пригнічення цитотоксичної активності натуральних кілерів, підвищений рівень ЦІК, дисімуноглобулінемія і зменшення бактерицидної активності нейтрофілів. Як можна побачити, це зміни притаманні вираженому інфекційно-запальному процесу. Вони відбуваються в результаті інтоксикації і гострофазної реакції, а зменшення кількості певних субпопуляцій лейкоцитів у крові обумовлені порушенням кістково-мозкової клі-

тинної мобілізації [Ferraro F. et al., 2011; Tepper O.M. et al., 2010] за участю гемопоетичних стовбурових клітин, а також апоптозом Т-клітин внаслідок неклональної їх активації бактеріальними суперантигенами.

Особливо треба відзначити, що високий рівень цитотоксичних Т-клітин разом з вираженою функціональною активацією натуральних кілерів може свідчити про можливість підсилення цитотоксичної дії цих клітин на β -клітини підшлункової залози у цьому періоді розвитку хвороби.

Отже, імунний статус у хворих на цукровий діабет з мікроангіопатією характеризується значним включенням у патогенез захворювання імунної системи і змінюється в динаміці залежно від дії притаманних певним стадіям процесу чинників.

Опейда Є.¹, Рудик М.¹, Федорчук О.², Святецька В.¹, Сківка Л.¹

**МЕТАБОЛІЗМ АРГІНІНУ МАКРОФАГІВ ТА МІКРОГЛІАЛЬНИХ КЛІТИН ЩУРІВ
ЗА ДІЇ ГІПОКСІЇ *IN VITRO***

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини», просп. Глушкова, 2, Київ, 03022, Україна

²Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є. Кавецького (ІЕПОР)
НАН України, вул. Васильківська, 45, м. Київ, 03022, Україна
e-mail: opeida@list.ru

Opeida E., Rudyk M., Fedorchuk O., Svyatetska V., Skivka L. ARGININE METABOLISM IN RAT MACROPHAGES AND MICROGLIAL CELLS EXPOSED TO HYPOXIA *IN VITRO*. Development of pathological processes is accompanied by the formation of hypoxia state and changes in functional polarization of macrophages in resident tissues. The aim of the work was to investigate the effect of hypoxia on arginine metabolism of microglial cells and peritoneal macrophages from rat *in vitro*. To characterize arginine metabolism nitrite level was assayed by the Griess reaction, arginase activity was measured in cell lysates by colorimetric method. The present study shows that hypoxia shifts metabolic profile of macrophages and microglial cells from rat to anti-inflammatory phenotype.

Гіпоксія важливий фактор, здатний впливати на функції макрофагів. Розвиток багатьох патологічних процесів супроводжується формуванням стану гіпоксії у тканинах та зміною функціональної поляризації резидентних макрофагів. За розвитку гіпоксії тканинні макрофаги активують гліколітичні метаболічні процеси і поляризуються до альтернативного фенотипу (M2), якому властива продукція протизапальних медіаторів, зниження антигенпрезентувальної здатності і переважання метаболізму аргініну аргіназою. Резидентні макрофаги головного мозку, мікроглія, характеризуються консервативністю метаболізму і відмінною від інших тканинних макрофагів реакцією на гіпоксичні умови, яка до сьогоднішнього дня залишається недостатньо дослідженою.

Метою роботи було порівняльне вивчення впливу гіпоксії на метаболічний профіль клітин мікроглії та перитонеальних макрофагів (ПМ) щурів *in vitro*.

У дослідженнях використовували несенситивовані ПМ та клітини мікроглії, виділені у градієнті перколу. Клітини мікроглії та ПМ щурів культивували за умов нормоксії (21% O₂) або гіпоксії (3% O₂) протягом 24 год. Рівень оксиду азоту аналізували в реакції Гріса. Аргіназну активність вимірювали у клітинних лізатах колориметричним методом.

В умовах гіпоксії аргіназна активність клітин мікроглії та ПМ зростала в 2 та в 1,5 рази, відповідно. Синтез оксиду азоту клітинами мікроглії в умовах гіпоксії зменшувався у 2 рази. Перитонеальні макрофаги за дії гіпоксії знижували метаболізм азоту із залученням індукційної NO-синтази в 3 рази порівняно з клітинами, які культивували за умов нормоксії.

Отже, 24-година гіпоксія спричиняє зсув метаболізму аргініну перитонеальними макрофагами і мікрогліальними клітинами у бік переважання його утилізації аргіназою, виразніше у випадку мікрогліальних фагоцитів.

Орловська Л., Бойко Т., Коваленко С., Прокоп'єва І., Шматко Г.

З ПИТАННЯ СЕРОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КУЛЬТУР МІКРООРГАНІЗМІВ

ВСП «Кам'янський міський відділ лабораторних досліджень» Державної установи
«Дніпропетровський обласний лабораторний центр МОЗ України»
вул. Медична, 51, м. Кам'янське, Дніпропетровська область, 51934, Україна
e-mail: dolc.vsp.4@ses.dp.ua

Orlovskaya L., Boiko T., Kovalenko S., Prokopenko I., Shmatko G. ON THE QUESTION OF SEROLOGICAL PROPERTIES OF CULTURES OF MICROORGANISMS. Large numbers of passages increase the risk of culture dissociation. As a result, biochemical structure can be changed or the serological properties can be lost. Minimal number of passages of and prognosis of culture in repetitions is required to provide successful identification of cultures and for the internal control of culture medium, especially in the case of *Shigella sonnei*.

У повсякденній практичній роботі кожна лабораторія, яка проводить дослідження з визначення мікроорганізмів 3–4 групи патогенності стикається з питанням біохімічних та серологічних властивостей різних культур. Це пов'язано в першу чергу з визначенням властивостей виділених в лабораторіях культур мікроорганізмів під час індикації та ідентифікації, вивчення штамів, які надходять з інших лабораторій для підтвердження результатів первинної ідентифікації та є невід'ємним у внутрішньому контролі якості у дослідженні біологічних властивостей поживних середовищ для якого використовують еталонні музейні культури.

У мікробіологічній лабораторії Відокремленого структурного підрозділу «Кам'янський міський відділ лабораторних досліджень» в роботі використовують 19 штамів музейних культур бактерій, зокрема, і збудник дизентерії *S. sonnei*. Під час ведення музейних культур нами забезпечується максимальне збереження типових властивостей штамів та чіткий контроль пасажування, адже збільшення кількості пасажів збільшує ризик дисоціації культури, наслідком чого може стати зміна біохімічних або втрата серологічних властивостей, що підтверджується літературними даними. Найчастіше такі зміни відбуваються з культурами шигел *S. sonnei*, відмінність яких виявляється в постійній дисоціації на два варіанти морфологічно різних колоній – S- і R-форми (S-форми колонії плоскоопуклі, круглі, з рівними краями, блискучі, R-форми колонії неправильної форми, з нерівними краями з шорсткуватою матовою поверхнею). Втрата *S. sonnei* аглютинабельності часто є наслідком того, що у збудника в R-формі змінюється антигенна специфічність і мікробна клітина не здатна зв'язуватись з активними центрами антитіл.

У роботі з нашою еталонною колекцією колонії культури *S. sonnei* в S-формі давали аглютинацію зі специфічними сироватками, але інколи траплялись практичні випадки, коли культура переходила в R-форму з дуже слабкою аглютинацією, або зовсім втрачала цю властивість, при цьому біохімічні властивості не змінювались. Такі ж явища дисоціації культур спостерігали з *S. sonnei*, які надійшли до нашої лабораторії для підтвердження результатів ідентифікації з баквідділу клініко-діагностичної лабораторії під час виконання діагностичних аналізів. Культури від трьох хворих на гостру кишкову інфекцію надійшли на скошеному поживному агарі (у двох повторях). У день надходження та початку досліджень культури першого повтору позитивно аглютинували з адсорбованою полівалентною сироваткою (*S. flexneri* I–VI, *S. sonnei*) і адсорбованою моновалентною сироваткою *S.*

sonnei I–II фаз. У подальшому, в процесі вивчення біохімічних властивостей надісланих штамів культури після 2–3 пасажів поступово втрачали аглютинабельність, так як переходили в R-форму, біохімічні властивості при цьому не змінилися. Культури ж другого повтору, які зберігали в холодильнику та не пасажували, продовжували проявляти свої серологічні властивості. Із вивчених за останні 10 років 73 культур шигел вперше в трьох випадках були відмічені зміни серологічних властивостей.

Отже, для проведення успішної ідентифікації культур та внутрішнього контролю якості поживних середовищ вкрай необхідно забезпечити мінімальну кількість пасажів як еталонних мікроорганізмів, так і бажано передбачити культуру в повторях у разі первинної ідентифікації, особливо культур *S. sonnei*.

Орловський А.

ЕКОЛОГІЯ ТА ІДЕНТИФІКАЦІЯ ПАТОГЕНУ ВІРУСНОЇ ПРИРОДИ ЛІСОВИХ РОСЛИН В УМОВАХ ПОЛІССЯ

Інститут агроєкології і природокористування НААН України
вул. Метрологічна, 12, Київ-143, 03143, Україна
e-mail: agroekologynaan@gmail.com

Orlovskiy A. ECOLOGY AND IDENTIFICATION OF VIRUS PATHOGEN OF FOREST PLANTS IN POLISSIA CONDITIONS. The viruses of forest woody plants have been identified in the conditions of Ukrainian Polissya for the first time. It has been revealed that maple (*Acer platanoides* L.) and western plane (*Platanus orientalis* L.) were infected with isolates of tobacco mosaic virus. Cucumber mosaic virus has been identified in *Betula pendula* (*Betula pendula* Roth.) and Ilarvirus has been detected in *Corylus avellana* (*Corylus avellana* L.) Preventive measures were developed to control infection.

У матеріалах роботи розглянуто результати скринінгу лісових досліджень вірусів та їх ідентифікація на рослинах клену, берези, сосни. При дослідженні використовували загальноприйняті методи екологічного, вірусологічного та мікологічного спрямування. При цьому застосовували візуальні спостереження, рослини-індикатори, електронну мікроскопію, імуноферментний аналіз та розділення білків в поліакриламідному гелі.

Серед різних видів клену відмічено циркуляцію двох ізолятів вірусу тютюнової мозаїки на клені гостролистому (*Acer platanoides* L.) та платані східному (*Platanus orientalis* L.). Вірус огіркової мозаїки, як показали дослідження, уражує березу повислу (*Betula pendula* Roth.), а на рослинах ліщини звичайної (*Corylus avellana* L.) ідентифіковано *ilarvirus* і *carlovirus*.

У дослідях відмічена циркуляція вірусів серед деревних та трав'янистих культур в лісових екологічних нішах. Досліджено, що окремі ідентифіковані віруси уражують деревні рослини в комплексі з бактеріями та мікроскопічними грибами різних таксономічних груп.

На основі ідентифікування патогенів вперше розроблена стратегічна карта їх поширення в екологічних регіонах України. Відмічено також циркуляцію виділених патогенів лісових екосистем в польових агроценозах.

Ураховуючи властивості вірусів пропонуються профілактичні заходи проти цих патогенів – застосування органічних біопрепаратів, отримання безвірусного посадкового матеріалу на основі біотехнологічних процесів та кліностакування з використанням фізичного фактору мікрогравітації.

Остапюк Н.¹, Васильченко О.², Волощук Н.³

**АНТИФУНГАЛЬНА ДІЯ 3-ГІДРОКСИ-ХІНОЛОНІВ
ЩОДО ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *FUSARIUM LINK***

¹Національний університет «Києво-Могиланська академія»

вул. Г. Сковороди, 2, м. Київ, 04655, Україна

²Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

вул. Академіка Заболотного, 150, м. Київ, 03680, Україна

³Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК Національного університету біоресурсів і природокористування України

вул. Героїв оборони, 13, м. Київ, 03041, Україна

e-mail: Nadejdagirl@bigmir.net

Ostapiuk N., Vasilchenko O., Voloshchuk N. ANTIFUNGAL ACTIVITY OF 3-HYDROXY-QUINOLONES AGAINST *FUSARIUM LINK* FUNGI. *Fusarium* fungi are known agents of grain contamination with mycotoxins. At initial screening of quinolone series it was shown that these agents effectively inhibited RNA synthesis in vitro in a model transcription system of phage T7 with inhibition concentration in measure of 20-1 μ M. The results demonstrate reliable antifungal activity of quinolone compounds toward *Fusarium culmorum*.

Гриби роду *Fusarium Link* належать до збудників небезпечних хвороб рослин, які проявляються як коренева гниль, вянення, фузаріоз, ураження насіння. Види роду *Fusarium* характеризуються широкою спеціалізацією і здатні паразитувати на різних видах рослин. Ушкоджуючи рослини у вегетаційний період, вони також здатні продовжувати власну життєдіяльність у міжвегетаційний період на зерні [Харченко, 1985; Sapsai, 2016; Shukla, 2015].

Фузаріуми вважаються найнебезпечнішими забруднювачами зерна мікотоксинами як у вегетаційний період, так і під час зберігання зерна. Представники роду *Fusarium* відомі своєю здатністю продукувати низку токсинів, зокрема вомітоксин (дезоксиніваленол, ДОН), 3-АДОН, 15-АДОН, Т-2 токсин, НТ-2 токсин, зеареленон, неозоланіол, фумонізени [Коляденко, 2002; Lugauskas et al., 2007].

До найпоширеніших в Україні видів роду *Fusarium* належать: *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. gibbosum*, *F. heterosporum*, *F. javanicum*, *F. verticillioides*, *F. semitectum*, *F. oxysporum* та *F. solani*. Перелічені гриби зберігаються у ґрунті у вигляді хламідоспор і мікросклероціїв, та перитеціїв на рослинних рештках, створюючи інфекційний фон для нових посівів культурних рослин. Тому все більшої актуальності набуває пошук серед існуючих та синтез нових речовин хімічного чи біологічного походження, які здатні пригнічувати ріст і розвиток грибів – збудників хвороб в агрофітоценозах [Парфенюк та ін., 2016].

З цією метою у роботі досліджували антифунгальні властивості серії хінолонів. Розпочато вивчення механізмів їхнього впливу на мікобіоту культурних рослин, зокрема на види роду *Fusarium*. У результаті проведених досліджень виявлено, що досліджені сполуки характеризуються здатністю пригнічувати синтез РНК *in vitro* у модельній системі транскрипції бактеріофагу Т7. Серед них визначено низку тест-агентів, для яких показник IC_{50} коливається у межах 20 – 1 мкМ. Виявлено також достовірну антифунгальну дію досліджених препаратів щодо виду *Fusarium culmorum* та *Aspergillus flavus*.

Отже, встановлення антифунгальної дії 3-гідрокси-хінолонів щодо представників роду *Fusarium Link* показало їх перспективність, як інгібіторів розвитку патогенних мікроміцетів.

Пілюс О., Мороз О., Яворська Г., Гнатуш С., Богославець Х.
ВИКОРИСТАННЯ ФЕРУМ (III) ЦИТРАТУ, КАЛІЙ БІХРОМАТУ І МАНГАН (IV)
ОКСИДУ ЯК АКЦЕПТОРІВ ЕЛЕКТРОНІВ *DESULFOVIBRIO* SP.

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: ok_pilts1906@mail.ua

Pilts O., Moroz O., Yavorska G., Hnatush S., Bohoslavets Kh. USAGE OF IRON (III) CITRATE, POTASSIUM DICHROMATE AND MANGANESE (IV) OXIDE AS ELECTRON ACCEPTORS BY *DESULFOVIBRIO* SP. It was established that sulfate reducing bacteria of *Desulfovibrio* genus, isolated from Yavorivske Lake, with different intensity used 1.7–10.4 mM $C_6H_5O_7Fe$, $K_2Cr_2O_7$ and MnO_2 as electron acceptors in the process of anaerobic respiration. Strain *Desulfovibrio* sp. Yav-8 was most resistant to negative influence of heavy metal compounds comparatively to other strains of bacteria.

Сульфатвідновлювальні бактерії в результаті дисиміляційної сульфатредукції утворюють водень сульфід, який взаємодіє з йонами металів з утворенням їх нерозчинних сульфідів [White et al., 2000]. Ці бактерії також окиснюють органічні субстрати з використанням окиснених форм металів як акцепторів електронів, перетворюючи їх у менш токсичні для живих організмів сполуки [Richter et al., 2012]. Імобілізація металів у формі нерозчинних сульфідів та їх відновлення у процесі анаеробного дихання є важливими механізмами стійкості бактерій до сполук важких металів у забруднених середовищах [Viti et al., 2014]. Ефективність біологічних методів очищення довкілля від поллютантів у першу чергу залежить від стійкості мікроорганізмів до сполук металів. Тому метою роботи було проаналізувати можливість використання ферум (III) цитрату, калій біхромату та манган (IV) оксиду за концентрацій у середовищі 1,7–10,4 мМ як акцепторів електронів анаеробного дихання сульфатвідновлювальними бактеріями роду *Desulfovibrio*, виділеними з озера Яворівське, для оцінки їх стійкості до сполук металів.

Бактерії *Desulfovibrio desulfuricans* IMB K-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-6 і *Desulfovibrio* sp. Yav-8 вирощували у середовищі Кравцова-Сорокіна без сульфат-йонів з цистеїном як джерелом сульфору (0,2 г/л) та натрій лактатом чи цитратом як донором електронів (17,9 мМ) за анаеробних умов при 30 °C упродовж 10 діб [Гудзь і співавт., 2014]. Початкова концентрація клітин: 10^8 КУО/мл. Стерильні розчини $C_6H_5O_7Fe$, $K_2Cr_2O_7$ та $C_4H_4O_4$ (контроль), а також наважки MnO_2 вносили у середовище до їхніх кінцевих концентрацій 1,7; 3,5 (контроль); 5,2; 6,9; 10,4 мМ. До середовища з $C_6H_5O_7Fe$ замість $NaC_3H_5O_3$ вносили $Na_3C_6H_5O_7$ за концентрації 17,9 мМ. На 2, 4, 6, 8, 10 добу росту біомасу бактерій визначали турбідиметричним методом [Гудзь і співавт., 2014]. У культуральній рідині якісно визначали наявність йонів феруму (III), біхромату та манганату, кількісно – вміст йонів феруму (II) за реакцією з о-фенантроліном [Harris, 2003].

Встановлено, що сульфатвідновлювальні бактерії з різною інтенсивністю використовують 1,7–10,4 мМ $C_6H_5O_7Fe$, $K_2Cr_2O_7$ та MnO_2 як акцептори електронів. Найвищу біомасу під час росту у середовищі зі всіма акцепторами електронів нагромаджував штам *Desulfovibrio* sp. Yav-8. Біомаса після 10 діб росту бактерій усіх штамів у середовищі з ферум (III) цитратом виявилася незначно вищою, а у середовищі з калій біхроматом та манган (IV) оксидом – майже вдвічі нижчою, ніж у середовищі з фумаратом за концентрації акцепторів електронів 3,5 мМ. Найвищу біомасу бактерії нагромаджували у середовищі з найнижчою концентрацією сполук металів (1,7 мМ), найнижчу – з найвищою (10,4 мМ), що можна пояснити токсичним впливом сполук металів на клітини бактерій. На 10 добу йони феруму (III) повністю відновлювалися бактеріями й у середовищі їх не виявляли. Вміст йонів феруму (II) у культуральній рідині сягав 1,7–10,4 мМ. Йони біхромату і манганату

виявляли в середовищі впродовж усього часу культивування бактерій. Найтоксичнішим для бактерій виявився MnO_2 за всіх досліджених концентрацій у середовищі, порівняно з $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$ і $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Завдяки стійкості до сполук металів бактерії *Desulfovibrio* sp. перспективні для використання у технологіях очищення довкілля від небезпечних забруднювачів.

Рубіновська Б., Шкулка О., Мороз О., Яворська Г., Гнатуш С.

**СУЛЬФІДОГЕННА АКТИВНІСТЬ *DESULFUROMONAS* SPP.
ЗА ВПЛИВУ ЙОНІВ ПЛЮМБУМУ**

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: rubinovska96@mail.ru

Rubinovska B., Shkulka O., Moroz O., Yavorska G., Hnatush S. SULFIDOGENIC ACTIVITY OF *DESULFUROMONAS* SPP. UNDER THE INFLUENCE OF PLUMBUM IONS. It was established that growth and dissimilatory sulfur reduction of *Desulfuromonas* spp. is repressed under the influence of 3–4 mM $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ in incubation mixture. At the of presence 0.5–1 mM $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ in medium with S^0 plumbum ions are bound almost completely (for 90–100 %) by produced by bacteria hydrogen sulfide in form of no soluble plumbum sulfide. Bacteria are perspective to usage in technologies of wastewaters purification from plumbum compounds.

Бактерії роду *Desulfuromonas* здійснюють дисиміляційне відновлення сірки, а також сполук, що містять полі- або дисульфідні зв'язки, до гідроген сульфіду, окиснюючи при цьому органічні субстрати до CO_2 і H_2O [Carrity, 2001]. H_2S є небезпечним забруднювачем довкілля, він пригнічує анаеробне дихання у мікроорганізмів, пошкоджує структуру метало- та дисульфідомісних білків [Julian et al., 2005]. Концентрація H_2S у Яворівському озері сягає 4–6 г/м³, у той час як його ГДК – 0,3 г/м³ [Мороз і співав., 2008]. Сульфідогенні бактерії є перспективними для застосування у біотехнологіях очищення стічних вод від важких металів [Франк, Лушников, 2006]. Внаслідок взаємодії H_2S з йонами металів відбувається їх осадження у формі сульфідів [White et al., 2000]. Токсичність сполук металів для бактерій є значною перешкодою для їх практичного використання. Важкі метали, зокрема, сполуки плюмбуму, потрапляють у довкілля разом із промисловими стоками та газовими викидами. У високих концентраціях вони спричиняють денатурацію білків, нуклеїнових кислот, порушення структури плазматичної мембрани [Таширев, 1995]. Чутливість сірко-відновлювальних бактерій до сполук плюмбуму залишається маловивченою. Метою роботи було встановити вплив плюмбум нітрату на сульфідогенну активність бактерій роду *Desulfuromonas*, виділених з Яворівського озера, та визначити рівень зв'язування йонів плюмбуму продуктованим бактеріями гідроген сульфідом.

Бактерії *Desulfuromonas acetoxidans* IMB B-7384, *Desulfuromonas* sp. Yavor-5 та *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 вирощували впродовж 10 діб за 30 °C у середовищі Кравцова-Сорокіна без сульфатів з елементною сіркою за анаеробних умов [Гудзь і співав., 2014]. Для вивчення впливу йонів плюмбуму на ріст бактерій та утворення ними H_2S клітини осаджували центрифугуванням (20 хв, 6 тис. об./хв), інкубували з $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ за концентрацій: 0 (контроль); 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4 мМ, у 0,9 % NaCl упродовж 1 год, осаджували, двічі відмивали 0,9 % розчином NaCl і висівали (густина засіву: 10⁸ КУО/мл) у середовище з S^0 . Для визначення рівня зв'язування Pb^{2+} продуктованим бактеріями H_2S їх вирощували у середовищі з S^0 та розчином $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ за концентрацій 0 (контроль); 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4 мМ. Біомасу визначали турбідиметричним методом [Гудзь і співав., 2014]. У культуральній рідині кількісно визначали вміст H_2S спектрофотометричним методом за утворенням метиленої сині [Гудзь і співав., 2014], якісно – наявність Pb^{2+} [Harris, 2003]. Вміст PbS у середовищі росту бактерій визначали ваговим методом [Мороз, 2013].

Сірководновловальні бактерії виявилися стійкими до 0,5–2,5 мМ $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ у інкубаційній суміші. Плюмбум нітрат за концентрації 3–4 мМ в інкубаційній суміші майже вдвічі інгібував нагромадження бактеріями біомаси та їх сульфідогенну активність. За наявності у середовищі з S^0 0,5–1 мМ $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ йони плюмбуму майже повністю (на 90–100 %) зв'язувалися утвореним бактеріями гідроген сульфідом у вигляді нерозчинного PbS , що підтвердилося негативними результатами якісних реакцій на наявність Pb^{2+} у середовищі. Рівень зв'язування H_2S 1,5 мМ Pb^{2+} не перевищував 74 %, оскільки кількості гідроген сульфиду виявилось недостатньо для повної взаємодії з йонами металу. Бактерії *Desulfuromonas* spp. перспективні для використання у технологіях очищення стічних вод від сполук плюмбуму.

Сегін Т., Костерева М., Шумська З., Гнатюш С.

**ВПЛИВ КУПРУМ (II) СУЛЬФАТУ НА ГЛУТАТІОН-S-ТРАНСФЕРАЗНУ
АКТИВНІСТЬ БАКТЕРІЙ *CHLOROBIVM LIMICOLA* IMB K-8**

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: segint@ukr.net

Segin T., Kostereva M., Shumska Z., Hnatush S. THE INFLUENCE OF COPPER (II) SULFATE ON GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE ACTIVITY OF *CHLOROBIVM LIMICOLA* IMB K-8 BACTERIA. Heavy metal ions catalyze formation of reactive oxygen species (ROS). Glutathione-dependent enzymes play a key role in detoxification of ROS, termination of free radical chain reactions and neutralization of toxic products. Primary function of glutathione-S-transferase (GSH-S-T) is catalysis of conjugation of glutathione with electrophilic groups of xenobiotics and products of lipid peroxidation and, accordingly, termination of chain reaction of lipid peroxidation and protection of cell membranes.

In this work it was investigated an influence of copper (II) sulphate in concentrations from 0.05 to 0.5 mM on glutathione-S-transferase activity of cell-free extracts of photosynthetic bacteria *Chlorobium limicola* IMB K-8. It was shown that GSH-S-T activity under the influence of all investigated concentrations of copper (II) sulphate increased and changed in dependence on duration of cultivation and the concentration of copper (II) sulphate in the culture medium.

Йони металів зі змінною валентністю спричиняють утворення активних метаболітів кисню (АМК). Глутатіон-залежні ферменти відіграють важливу роль у детоксикації АМК, термінації вільнорадикальних ланцюгових реакцій та токсичних продуктів. Глутатіон-S-трансфераза (GSH-S-T) бере участь у захисті клітин від ксенобіотиків і продуктів перекисного окиснення ліпідів за допомогою їхнього відновлення, приєднання до субстрату молекули глутатіону чи нуклеофільного заміщення гідрофобних груп. Крім того, глутатіон-S-трансфераза ефективно відновлює гідрофобні гідропероксида з великим об'ємом молекули: гідроперекиси поліненасичених жирних кислот, фосфоліпідів, а також гідропероксида мононуклеїдів та ДНК, беручи тим самим участь у їхній репарації..

Метою роботи було дослідити вплив купрум (II) сульфату на глутатіон-S-трансферазну активність бактерій *C. limicola* IMB K-8. Для досліджень суспензію клітин бактерій обробляли упродовж однієї години розчином купрум (II) сульфату у концентраціях від 0,05 до 0,5 мМ. У контроль солі металу не вносили. Після інкубації клітини відмивали трис-НСІ буфером (рН 7,0) і висівали на середовище GSB. Дослідження активності ензиму у безклітинних екстрактах *C. limicola* IMB K-8 за впливу солі металу проводили на 6, 7 та 8 доби культивування.

Глутатіон-S-трансферазна активність у контролі змінювалась, залежно від часу культивування. Внесення купрум (II) сульфату в інкубаційне середовище зумовлювало зростання GSH-S-T активності у безклітинних екстрактах *C. limicola* IMB K-8, порівняно

з контрольним зразком. Ензиматична активність у безклітинних екстрактах змінювалася залежно від концентрації солі металу в інкубаційному середовищі. Варто відзначити, що найвищою вона була у безклітинних екстрактах *C. limicola* ІМВ К-8 на шосту добу культивування за внесення 0,125 мМ солі металу в інкубаційне середовище. Зі збільшенням тривалості вирощування до восьми діб спостерігали зниження GSH-S-T активності, порівняно з шостою та сьомою добами. Внесення купрум (II) сульфату у концентрації 0,1 мМ спричиняло зростання ензиматичної активності в 1,3 рази, а 0,125 мМ та 0,5 мМ – у 1,7 та 1,6 рази, порівняно з контролем на сьому добу культивування.

Оскільки, глутатіон-S-трансфераза відновлює гідропероксильні групи окиснених фосфоліпідів безпосередньо в мембрані без їх попереднього гідролізу фосфоліпазою, припускаємо, що підвищення активності ферменту, свідчить про зростання вмісту пошкоджених фосфоліпідів мембрани.

Сех Н., Свиш І., Черномаз М., Звір Г., Дубенська Л., Гнатуш С., Мороз О.

ВПЛИВ СПОЛУК ФОСФОРУ НА ПРОЦЕС АЗОТОФІКСАЦІЇ У БАКТЕРІЙ
AZOTOBACTER CHROOCOCCUM VKM B-1272

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: ivanochkasvystch@gmail.com

Sekh N., Swyshch I., Chernomaz M., Zvir G., Dubenska L., Hnatush S., Moroz O.

THE INFLUENCE OF PHOSPHORUS COMPOUNDS ON NITROGEN FIXATION IN BACTERIA *AZOTOBACTER CHROOCOCCUM* VKM V-1272. It was established that increase of concentration of K_2HPO_4 in the medium inhibits the biomass accumulation and ammonium ions production by cells of nitrogen-fixing bacteria *Azotobacter chroococcum* VKM V-1272. Na_2HPO_4 in studied concentrations inhibits the biomass accumulation and ammonium ions production by these bacteria.

Ґрунт є основним природним ресурсом, середовищем, в якому формується біологічне різноманіття живих організмів. Важливою складовою ґрунту є мікробіота, яка здійснює трансформацію рослинних решток, біогенних елементів; бере участь у формуванні структури ґрунту, утворенні гумусу і його мінералізації, у поповненні біосфери мінеральним нітрогеном, у мобілізації фосфору з органічних та важкорозчинних неорганічних сполук [Андреюк, 2001].

Бактерії роду *Azotobacter* – вільноживучі азотофіксувальні бактерії, чутливі до фосфору, калію, кальцію, бору, магнію та органічних речовин. Джерелом фосфору для них можуть бути органічні та мінеральні фосфоровмісні сполуки [Волкогон, 2000].

Тому метою роботи було дослідити здатність бактерій *Azotobacter chroococcum* VKM B-1272 рости та фіксувати атмосферний азот за впливу сполук фосфору.

У роботі використали музейну культуру *A. chroococcum* VKM B-1272. Бактерії вирощували у середовищі Ешбі упродовж 2–3 діб за температури 28 °С та аеробних умов. У пробірки об'ємом 20 мл вносили 5 мл середовища, яке як джерело фосфору містило: K_2HPO_4 (Na_2HPO_4) у концентраціях 0,22 г/л та 0,44 г/л. Вихідна біомаса становила 0,05 г/л. У процесі культивування періодично визначали біомасу культури за мутністю розведеної суспензії клітин фотометруванням на фотоелектроколориметрі КФК-3; концентрацію NH_4^+ у середовищі визначали колориметричним, концентрацію фосфат-іону – спектрофотометричним методом [Гудзь і співавт., 2014; Granger, 1996; Ivancic, 1984].

Найвищими показники біомаси були на середовищі Ешбі, джерелом фосфору у якому був калій гідроортофосфат. Додавання у середовище культивування натрій гідроортофосфату за концентрації 0,22 г/л замість K_2HPO_4 призводило до зниження біомаси на 8 %

на другу добу культивування. За підвищеної концентрації натрій гідроортофосфату спостерігали сповільнення нагромадження біомаси на 28 %.

Дослідження впливу сполук фосфору на фіксацію азоту бактеріями *A. chroococcum* ВКМ В-1272 показало зниження концентрації іонів амонію у культуральній рідині приблизно на 25 % порівняно з контролем за умови підвищеного вмісту калій гідроортофосфату. За умови росту на модифікованому середовищі Ешбі з Na_2HPO_4 за концентрації 0,22 г/л фіксація атмосферного азоту бактеріями *A. chroococcum* ВКМ В-1272 інгібувалася порівняно з контролем на 58 %. За подвійної концентрації натрій гідроортофосфату спостерігали зниження концентрації іонів амонію у середовищі культивування на 62 %.

Ріст бактерій *A. chroococcum* ВКМ В-1272 у середовищі Ешбі супроводжувався зниженням концентрації фосфат-іонів, які вносили у середовище у вигляді калій (натрій) гідроортофосфату. Як свідчать отримані результати, ефективність використання бактеріями фосфат-іонів була вищою на середовищі Ешбі з K_2HPO_4 впродовж першої доби. За умови внесення у середовище культивування Na_2HPO_4 за різних концентрацій впродовж першої доби концентрація фосфат-іонів не змінилася порівняно з вихідними показниками.

Сич Г., Звір Г., Гнатуш С., Мороз О.

**АМОНІФІКАЦІЯ БІЛКОВИХ РЕЧОВИН БАКТЕРІЯМИ *PROTEUS VULGARIS*
ЗА ВПЛИВУ СУПЕРФОСФАТУ**

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: such.halya@ukr.net

Sych G., Zvir G., Gnatush S., Moroz O. DESTRUCTION OF PROTEINS BY BACTERIA *PROTEUS VULGARIS* UNDER THE INFLUENCE OF SUPERPHOSPHATE. It was established that superphosphate at high concentrations inhibits the biomass accumulation and ammonium ions production by cells of bacteria *Proteus vulgaris*.

Навколишнє середовище, зокрема й ґрунт, зазнає постійного впливу господарської діяльності людини. До найпоширеніших факторів антропогенної дії, що мають важливе значення для формування і функціонування мікробних угруповань земель сільськогосподарського призначення, належать засоби хімічного захисту рослин та добрива [Патика, 2007].

Мінеральні добрива є одним із найефективніших засобів підвищення родючості ґрунтів, урожайності та поліпшення якості продукції рослинництва. Проте ефективність їхнього використання не перевищує 50 %. Значна кількість легкорозчинних добрив потрапляє у водойми, нагромаджується у ґрунтах, що призводить до забруднення навколишнього середовища. Внесення у ґрунт мінеральних добрив змінює й умови існування ґрунтових мікроорганізмів, які також потребують мінеральних елементів. Тому визначення впливу мінеральних добрив, зокрема, фосфорних, на життєдіяльність мікроорганізмів ґрунту є одним з головних підходів в обґрунтуванні доцільності і можливості використання їх без шкоди для ґрунтових мікроорганізмів [Андреюк, 2001; Курдиш, 2007].

Бактерії роду *Proteus* поширені у ґрунті, воді відкритих водойм, стічних водах тощо. Їм притаманний високий ступінь біохімічної активності. Для бактерій роду *Proteus* характерна висока біологічна пластичність та стійкість до ксенобіотиків, що дозволяє їм пристосовуватись до різних умов існування.

У роботі використали музейну культуру *P. vulgaris*. З метою дослідження впливу суперфосфату на процес амоніфікації бактерії вирощували у середовищі Зенгена у пробірках об'ємом 20 мл, вносячи 4 мл середовища і добриво за концентрацій 5 та 10 г/л (вихідна біомаса 0,05 г/л) упродовж 2–3 діб за температури 28 °С за аеробних умов. Контролем було

середовище Зенгена без добрива. У процесі культивування періодично визначали біомасу культури за мутністю розведеної суспензії клітин фотометруванням на фотоелектроколориметрі КФК-3; концентрацію NH_4^+ у середовищі визначали колориметричним методом [Гудзь і співавт., 2014; Ivancic, 1984].

Як свідчать отримані результати, суперфосфат у стаціонарній фазі росту незначно стимулював ріст бактерій *P. vulgaris* у середовищі Зенгена порівняно з контролем: за концентрації 5 г/л у 1,12 разу на першу добу культивування та у 1,10 разу на другу добу, а за концентрації 10 г/л спостерігали інгібування росту культури у 2,18 разу та у 1,90 разу на першу та другу добу культивування відповідно.

Дослідження впливу суперфосфату на амоніфікацію білкових речовин бактеріями *P. vulgaris* показало, що цей процес інгібувався за дії суперфосфату залежно від концентрації. Суперфосфат за концентрації 5 г/л зумовлював зростання концентрації іонів амонію у середовищі культивування порівняно з контролем у 1,1 разу, а за концентрації 10 г/л відбувалось зниження концентрації іонів амонію у 1,30 разу та 1,60 разу на першу та другу добу культивування відповідно.

Сорочинська Н., Пенькось І., Мороз О., Борсукевич Б., Гнатущ С.

ВПЛИВ ПЛЮМБУМ НІТРАТУ

НА УТВОРЕННЯ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ *DESULFOVIBRIO* SPP.

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

e-mail: nataliasorochunska96@gmail.com

Sorochynska N., Penkos I., Moroz O., Borsukevych B., Hnatush S. THE INFLUENCE OF PLUMBUM NITRATE ON HYDROGEN SULFIDE PRODUCTION BY *DESULFOVIBRIO* SPP. It was established that growth and sulfidogenic activity of *Desulfovibrio* spp. is repressed under the influence of 2–2.5 mM $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ in incubation mixture. At the presence of 0.5–1.5 mM $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ in the medium with SO_4^{2-} plumbum ions bind almost completely (for 96–100 %) by produced by bacteria hydrogen sulfide in the form of no soluble PbS. Bacteria can be used in technologies of environment purification from heavy metals.

Сульфатвідновлювальні бактерії привертають увагу дослідників, які розробляють **технології** очищення стічних вод [Нао, 2000; White et al., 2000]. Ці бактерії здійснюють дисимільційну сульфат-, нітрат-, нітри- або металоредукцію, отримуючи енергію для росту внаслідок окиснення органічних речовин чи молекулярного водню [Ленгелер и соавт., 2005]. Утворений бактеріями гідроген сульфід взаємодіє з йонами металів з осадженням їх у вигляді нерозчинних сульфідів [White et al., 2000; Мороз і співавт., 2011]. Оскільки хімічні методи очищення стоків дороги і малоефективні, мікробні процеси є перспективнішими, особливо із застосуванням сульфатвідновлювальних бактерій [Франк, Лушников, 2006]. Плюмбум – один із найтоксичніших металів – є синергістом і збільшує токсичність інших металів для мікроорганізмів. Він порушує структуру поверхневих шарів клітини, інгібує АТФ-азну активність плазматичної мембрани, взаємодіє з фосфоліпідами мембрани з утворенням специфічних комплексів, змінює величину трансмембранного потенціалу, пригнічує окремі процеси метаболізму [Таширев, 1995; Summers, 1992]. Чутливість бактерій до іонів плюмбуму вивчена недостатньо. Метою роботи було дослідити вплив плюмбум нітрату на нагромадження біомаси та сульфیدогенну активність бактерій роду *Desulfovibrio*, виділених з озера Яворівське, та визначити рівень зв'язування Pb^{2+} продуктованим бактеріями гідроген сульфідом у вигляді нерозчинного PbS.

Бактерії *Desulfovibrio desulfuricans* IMB K-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-6 та *Desulfovibrio* sp. Yav-8 вирощували впродовж 10 діб за 30 °C у середовищі Кравцова-Сорокіна за ана-

еробних умов [Гудзь і співавт., 2014]. Для вивчення впливу йонів плумбуму на ріст та утворення бактеріями H_2S клітини осаджували центрифугуванням (20 хв, 6 тис. об./хв), інкубували з $Pb(NO_3)_2$ за концентрацій: 0 (контроль); 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4 мМ, у 0,9 % NaCl упродовж години, осаджували, двічі відмивали 0,9 % розчином NaCl і висівали (густина засіву: 10^8 КУО/мл) у середовище із сульфат-йонами. Для визначення рівня зв'язування Pb^{2+} продукованим бактеріями H_2S їх вирощували у середовищі з SO_4^{2-} та розчином $Pb(NO_3)_2$ за концентрацій 0 (контроль); 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4 мМ. Біомасу визначали турбідиметричним методом [Гудзь і співавт., 2014]. У культуральній рідині кількісно визначали вміст H_2S спектрофотометричним методом за утворенням метиленової сині [Гудзь і співавт., 2014], якісно – наявність Pb^{2+} [Harris, 2003]. Вміст PbS у середовищі росту бактерій визначали ваговим методом [Мороз, 2013].

Сульфатвідновлювальні бактерії виявилися стійкими до 0,5–1,5 мМ $Pb(NO_3)_2$ у інкубаційній суміші. Плумбум нітрат за концентрації 2–2,5 мМ в інкубаційній суміші більше ніж удвічі інгібував ріст та сульфیدогенну активність бактерій. За наявності у середовищі з SO_4^{2-} 0,5–1,5 мМ $Pb(NO_3)_2$ йони плумбуму майже повністю (на 96–100 %) зв'язувалися утвореним бактеріями гідроген сульфідом у вигляді нерозчинного PbS, що підтвердилося негативними результатами якісних реакцій на наявність Pb^{2+} у середовищі. Рівень зв'язування H_2S 2 мМ Pb^{2+} не перевищував 65–70 %, оскільки кількості гідроген сульфідів виявилось недостатньо для повної взаємодії з йонами металу. Бактерії *Desulfovibrio* spp. можуть бути використані у технологіях очищення довкілля від важких металів.

Стриковський Н., Мороз О., Борсукевич Б., Гнатуш С.

**ВПЛИВ ЙОНІВ МАНГАНУ (II) НА УТВОРЕННЯ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ
СУЛЬФАТ- І СІРКОВІДНОВЛЮВАЛЬНИМИ БАКТЕРІЯМИ**

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: nazarstry@mail.ru

Strykovsky N., Moroz O., Borsukevych B., Hnatush S. THE INFLUENCE OF MANGANESE (II) IONS ON HYDROGEN SULFIDE PRODUCTION BY SULFATE AND SULFUR REDUCING BACTERIA. Growth and dissimilatory sulfate or sulfur reduction by bacteria of *Desulfovibrio* and *Desulfuromonas* genera is repressed under the influence of 2.5–4.0 mM $MnCl_2 \times 4H_2O$ in incubation mixture. At presence of up to 1.5 or 1 mM $MnCl_2 \times 4H_2O$ in medium with SO_4^{2-} or S^0 manganese (II) ions bind almost completely (for 99 and 98 % respectively) by produced by bacteria H_2S in form of no soluble MnS. Bacteria are perspective for usage in biotechnologies of environment purification from heavy metals.

Сульфат- і сірковідновлювальні бактерії відновлюють сульфати чи сірку до гідроген сульфідів. H_2S взаємодіє з йонами двовалентних металів з утворенням їх нерозчинних сульфідів [White et al., 2000]. Ці бактерії, окиснюючи органічні субстрати або H_2 , можуть використовувати сполуки сульфуру, нітрогену, важких металів, деякі органічні сполуки як акцептори електронів [Ленгелер і соавт., 2005]. При цьому сполуки металів перетворюються у менш токсичні для живих організмів форми [Lovley, 2005; Richter et al., 2012]. Механізми використання бактеріями різних акцепторів електронів вивчені недостатньо. Недостатньо також відомостей про вплив йонів металів, зокрема, мангану (II), на дисиміляційні сульфат- і сіркоредакцію, здійснювані бактеріями циклу сульфуру. Вивчення ефективності зв'язування йонів мангану (II) утвореним бактеріями H_2S дозволить оцінити їх біотехнологічний потенціал. Метою роботи було вивчити вплив манган (II) хлориду тетрагідрату на ріст та утворення H_2S сульфат- та сірковідновлювальними бактеріями, виділеними з озера Яворівське, та визначити рівень зв'язування Mn^{2+} продукованим бактеріями гідроген сульфідом.

Бактерії *Desulfovibrio desulfuricans* IMB K-6 та *Desulfuromonas acetoxidans* IMB B-7384 вирощували впродовж 10 діб за 30 °C у середовищі Кравцова-Сорокіна з SO_4^{2-} або S^0 відповідно за анаеробних умов [Гудзь і співавт., 2014]. Для вивчення впливу Mn^{2+} на ріст бактерій та утворення ними H_2S клітини осаджували центрифугуванням (20 хв, 6 тис. об./хв), інкубували з $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ за концентрацій: 0 (контроль); 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4 мМ, у 0,9 % NaCl упродовж години, осаджували, двічі відмивали 0,9 % розчином NaCl і висівали (густина засіву: 10^8 КУО/мл) у середовища з SO_4^{2-} або S^0 відповідно. Для визначення рівня зв'язування Mn^{2+} продукованим бактеріями H_2S їх вирощували у середовищі з SO_4^{2-} або S^0 та розчином $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ за концентрацій 0 (контроль); 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4 мМ. Біомасу визначали турбідиметричним методом [Гудзь і співавт., 2014]. У культуральній рідині кількісно визначали вміст H_2S спектрофотометричним методом за утворенням метиленової сині [Гудзь і співавт., 2014], якісно – наявність Mn^{2+} [Harris, 2003]. Вміст MnS у середовищі росту бактерій визначали ваговим методом [Мороз, 2013].

Бактерії *D. desulfuricans* IMB K-6 та *D. acetoxidans* IMB B-7384 виявилися стійкими до 0,5–2,0 мМ $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ у інкубаційній суміші. Манган хлорид тетрагідрат за концентрації 2,5–4,0 мМ в інкубаційній суміші більш ніж вдвічі інгібував нагромадження бактеріями біомаси та їх сульфیدогенну активність. За наявності у середовищі з SO_4^{2-} або S^0 до 1,5 або 1 мМ $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ йони мангану (II) майже повністю зв'язувалися (на 99 та 98 % відповідно) утвореним бактеріями H_2S у вигляді нерозчинного MnS, що підтвердилося негативними результатами якісних реакцій на наявність Mn^{2+} у середовищі. Рівень зв'язування утвореним бактеріями H_2S 2,0 та 1,5 мМ Mn^{2+} виявився відповідно в 1,5 та 1,3 рази меншим, ніж за нижчих концентрацій $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ у середовищі, оскільки кількості H_2S виявилось недостатньо для повної взаємодії з йонами металу.

Тарабас О., Гнатуш С., Мороз О., Комплікевич С., Захарко С.

ВИКОРИСТАННЯ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ ПУРПУРОВИМИ НЕСІРКОВИМИ
БАКТЕРІЯМИ *RHODOPSEUDOMONAS* SP. YA-2016

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: otarabas@gmail.com

Tarabas O., Hnatush S., Moroz O., Komplikovich S., Zakharko S. HYDROGEN SULFIDE UTILIZATION BY PHOTOTROPHIC NONSULFUR BACTERIA *RHODOPSEUDOMONAS* SP. Ya-2016. It was found, that the highest biomass (1.2 g/l) bacteria accumulated after the tenth day of growth in medium with 1.4 mM $\text{Na}_2\text{S} \times 9\text{H}_2\text{O}$. It was established that in this medium bacteria *Rhodopseudomonas* sp. Ya-2016 utilized hydrogen sulfide practically completely (on 97.9 %).

Деякі види пурпурових несіркових бактерій використовують відновлені сполуки сульфуру, зокрема, гідроген сульфід, як донори електронів у процесі аноксигенного фотосинтезу [Frigaard and Dahl, 2008]. У природі гідроген сульфід є у складі природних та вулканічних газів, у воді деяких мінеральних джерел, у невеликій кількості є у повітрі, оскільки утворюється у процесі розщеплення органічних речовин (рослинних та тваринних решток) [Ленгелер і соавт., 2005]. Гідроген сульфід спричиняє неврологічні, серцево-судинні, репродуктивні порушення й ураження органів зору у людини. За високих концентрацій він виявляє летальну дію на живі організми [Julian et al., 2005]. Пурпурові та зелені сіркові бактерії стійкіші до високих концентрацій гідроген сульфиду, на відміну від пурпурових несіркових [Козлова і співавт., 2008]. Тому метою роботи було дослідити вплив гідроген сульфиду за різних концентрацій на нагромадження біомаси пурпуровими несірковими бактеріями *Rhodopseudomonas* sp. Ya-2016.

Об'єктом досліджень були фототрофні пурпурові несіркові бактерії, виділені з озера Яворівське, одержані в чистій культурі та ідентифіковані як *Rhodospseudomonas* sp. Ya-2016. Бактерії культивували у модифікованому середовищі ATCC № 1449 без NaHCO_3 з $\text{CH}_3\text{COONa} \times 3\text{H}_2\text{O}$ (12 мМ) та вітаміном B_{12} (5 мкг/л) і вирощували впродовж 13 діб за анаеробних умов, інтенсивності освітлення 200 лк і температури 27–30 °C [Гудзь і співавт., 2011]. Для вивчення впливу гідроген сульфід на нагромадження біомаси бактеріями їх висівали (густина засіву – 0,25 г/л) у середовища з $\text{Na}_2\text{S} \times 9\text{H}_2\text{O}$ за концентрацій 1,4 (контроль); 2,8; 5,6 мМ. Біомасу визначали турбідиметричним методом, вміст гідроген сульфід у культуральній рідині – спектрофотометричним методом за утворенням метиленової сині [Гудзь і співавт., 2014].

Згідно наших досліджень, найвищу біомасу (1,2 г/л) бактерії нагромаджували на десятю добу росту у середовищі з 1,4 мМ $\text{Na}_2\text{S} \times 9\text{H}_2\text{O}$. Збільшення концентрації у середовищі цієї сполуки до 2,8 мМ призводило до зниження росту бактерій. Найбільше зниження біомаси відбулося за внесення у середовище 5,6 мМ $\text{Na}_2\text{S} \times 9\text{H}_2\text{O}$. За цієї концентрації ріст бактерій пригнічувався майже вдвічі, порівняно з контролем. Встановлено, що у середовищі з 1,4 мМ гідроген сульфід бактерії *Rhodospseudomonas* sp. Ya-2016 використовують його практично повністю (на 97,9 %). На десятю добу його концентрація становила 0,03 мМ. За більших концентрацій у середовищі гідроген сульфід використовується бактеріями менш інтенсивно, зокрема, за концентрації 2,8 мМ бактерії використали 60,0 % гідроген сульфід, 5,6 мМ – лише 20,0 %. Очевидно, сповільнення окиснення бактеріями гідроген сульфід за високих концентрацій у середовищі відбувається через пригнічення у них фотосинтетичних і ростових процесів. Можливо, гідроген сульфід, взаємодіючи з метало- та сульфідвмісними білками та іншими клітинними метаболітами [Julian et al., 2005], пошкоджує структуру й функції світлозбиральних пігментів, фотохімічних реакційних центрів та фотосинтезувальних електронтранспортних систем у клітинах фототрофних бактерій.

Трухим Н., Мороз О., Яворська Г., Богославець Х., Гнатюш С.

ВПЛИВ КУПРУМ (II) ХЛОРИДУ НА РІСТ *DESULFUROMONAS* SP. У
СЕРЕДОВИЩАХ З ФЕРУМ (III) ЦИТРАТОМ, КАЛІЙ БІХРОМАТОМ
ТА МАНГАН (IV) ОКСИДОМ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: natalya-tryhum@yandex.ru

Truchym N., Moroz O., Yavorska G., Bohoslavets Kh., Hnatush S. THE INFLUENCE OF COPPER (II) CHLORIDE ON *DESULFUROMONAS* SP. GROWTH IN MEDIA WITH IRON (III) CITRATE, POTASSIUM DICHROMATE AND MANGANESE (IV) OXIDE. It was established that sulfur-reducing bacteria *Desulfuromonas* sp., isolated from Yavorivske Lake, with different intensity used 1.7–10.4 mM $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ and MnO_2 as electron acceptors in the process of anaerobic respiration. Under the influence of 3–4 mM CuCl_2 significant repressing of biomass accumulation by bacteria of all strains after 10 days of cultivation in media with different content of $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$ and $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$ was observed. Bacteria growth in media with $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ and MnO_2 was significantly inhibited under the influence of 2.5 mM CuCl_2 .

Однією із основних проблем стану навколишнього середовища є збільшення рівня його забруднення важкими металами. Сірководновлювальні бактерії, окиснюючи органічні субстрати або H_2 , можуть використовувати сполуки сульфуру, нітрогену, карбону, металів як акцептори електронів [Richter et al., 2012; Gescher and Kappler, 2013; Viti et al., 2014]. Механізми відновлення бактеріями окиснених форм металів у процесі анаеробного дихання, зокрема, за впливу йонів купруму (II), вивчені недостатньо. Не дивлячись на те, що купрум

є кофактором для низки ферментів, за високих концентрацій він токсичний для мікроорганізмів, у першу чергу, внаслідок пошкодження цілісності цитоплазматичної мембрани [Таширев, 1994]. Тому метою роботи було проаналізувати інтенсивність використання як акцепторів електронів 1,7–10,4 мМ ферум (III) цитрату, калій біхромату та манган (IV) оксиду сірководнювальними бактеріями роду *Desulfuromonas*, виділеними з озера Яворівське, за впливу купрум (II) хлориду.

Бактерії *Desulfuromonas acetoxidans* IMB B-7384, *Desulfuromonas* sp. Yavor-5 та *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 вирощували у середовищі Кравцова-Сорокіна без йонів сульфату, сірки, з цистеїном як джерелом сульфуру (0,2 г/л) та натрій лактатом чи цитратом як донором електронів (17,9 мМ) за анаеробних умов при 30 °C упродовж 10 діб [Гудзь і співавт., 2014]. Початкова концентрація клітин: 10^8 КУО/мл. Для дослідження впливу CuCl_2 на використання бактеріями сполук металів клітини попередньо вирощували у середовищі з $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$ та $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$ (3,5 мМ), осаджували центрифугуванням (30 хв, 6 тис. об./хв), ресуспендували в розчині NaCl (0,9 %), інкубували годину з розчином CuCl_2 за концентрацій 0 (контроль); 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4 мМ, осаджували, двічі відмивали 0,9 % розчином NaCl і висівали в середовища з розчинами $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$ (контроль) або наважками MnO_2 за концентрацій 1,7; 3,5; 5,2; 6,9; 10,4 мМ. До середовища з $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$ замість $\text{NaC}_3\text{H}_5\text{O}_3$ вносили $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$. Біомасу визначали турбідиметрично [Гудзь і співавт., 2014]. У культуральній рідині якісно визначали наявність йонів феруму (III), біхромату та манганату, кількісно – вміст йонів феруму (II) за реакцією з о-фенантроліном [Нагіс, 2003].

Сірководнювальні бактерії з різною інтенсивністю використовують 1,7–10,4 мМ $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ та MnO_2 як акцептори електронів у процесі анаеробного дихання. Біомаса бактерій у середовищі з $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ виявилася нижчою, ніж у середовищах з $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$ і фумаратом за різних концентрацій, але вищою, ніж у середовищі з MnO_2 . На відміну від йонів біхромату і манганату йони феруму (III) за 10 діб повністю відновлювалися бактеріями. За впливу 3–4 мМ CuCl_2 спостерігали значне пригнічення нагромадження біомаси бактеріями всіх штамів у середовищах з $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$ і $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$. За впливу 2,5 мМ CuCl_2 відбувалося значне інгібування росту бактерій у середовищах з $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ та MnO_2 .

Хлібійчук Ю., Златогурська М., Товкач Ф.

СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ВІРІОННОЇ ДНК ПОМІРНИХ ЕРВІНІОФАГІВ 49 І 59

Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна
e-mail: khlibiichuk@gmail.com

Khlibiichuk Y., Zlatohurska M., Tovkach F. VIRION DNA STRUCTURE OF TEMPERATE ERWINIOPHAGES 49 AND 59. Related temperate bacteriophages 49 and 59 of phytopathogenic bacteria *Erwinia "horticola"* were the objectives of current research. A comparative study of their virion DNAs using bioinformatics analysis and standard restriction was carried out. It has been found that the genomes of both phages are cyclically permuted. But phage 59 is characterized by continuous permutation of the genome, while phage 49 has discrete permutation. Virion DNA of phage 49 has abnormal cleavage site for *SmaI* restriction enzyme that, unlike the rest *SmaI*-sites, is not completely hydrolysed.

Стрімкий розвиток технологій секвенування зробив аналіз первинної послідовності нуклеотидів необхідним етапом у вивченні вірусів [Ackermann, 2000]. Однак традиційні методи секвенування не дозволяють встановити деякі аспекти структурної організації молекули ДНК бактеріофагів [Sherwood, 2009]. Тому вивчення віріонної ДНК вимагає комбінації різних методів дослідження. Такий підхід ми застосовували для вивчення помірних фагів 49 і 59 фітопатогенної бактерії *Erwinia "horticola"* [Tovkach, 1985]. Попередні дослі-

дження показали, що їх геноми є циклічно пермутованими, однак перестановка має різний характер: безперервний у фага 59 і дискретний у фага 49. Аналіз первинної послідовності віріонної ДНК не підтвердив наявності пермутації геномів. Тому мета цієї наукової роботи полягала у вивченні структури віріонної ДНК, а також попередньому порівнянні геномів ервініофагів 49 і 59 на основі даних геноміки та рестрикційного аналізу.

Дані про циклічну пермутацію геномів фагів 49 і 59 були підтверджені за допомогою рестрикційного аналізу. Наявність додаткових фрагментів в гідролізній суміші характеризувало віріонні ДНК і відрізняло їх від рестрикційних патернів, отриманих *in silico*. Гетерогенний фрагмент «а» і субмолярний фрагмент «б» при *SmaI*-гідролізі ДНК фага 59 вказують на безперервний характер пермутації і упаковку геному за headful-механізмом. Про схожий механізм упаковки ДНК фага 49 та дискретність пермутації його геному свідчить наявність субмолярних фрагментів «а» і «б» та відсутність гетерогенних кінцевих фрагментів при *KpnI*-гідролізі.

«Аномальний» фрагмент був виявлений в результаті подвійного гідролізу ДНК фага 49 ендонуклеазами *KpnI* і *XhoI*. При цьому утворювався субмолярний фрагмент довжиною 11 т.п.н., який не зникав зі збільшенням концентрації рестриктази. Ще один «аномальний» фрагмент розміром 18 т.п.н. виявили під час гідролізу за допомогою ендонуклеази рестрикції *SmaI*. Природу цього фрагменту вивчали збільшенням концентрації фермента і подовження часу реакції. У міру підвищення концентрації рестриктази його кількість фрагмента зменшувалась до повного зникнення за десятикратної концентрації фермента. Подібний ефект спостерігали за подовження часу реакції, однак повного гідролізу фрагменту не вдалося досягнути навіть після 24 год інкубації.

Крім того, ряд незвичайних сайтів було виявлено при *DraI*-гідролізі віріонних ДНК фагів 49 і 59, однак пояснити їх природу наразі не видається можливим.

Отже, порівняльний аналіз сайтів рестрикції з використанням традиційного і біоінформатичного підходів достовірно показали, що геноми ервініофагів 49 і 59 є циклічно пермутованими. Пермутація має безперервний характер у випадку ДНК фага 59 і дискретний – для ДНК фага 49. Наявність аномальних сайтів рестрикції вказує на відмінність між реальною структурою фагової ДНК і даними, отриманими з використанням методів секвенування.

Черепашук І., Самойлов А.

ВПЛИВ ДЕЯКИХ ФЕНОЛЬНИХ КИСЛОТ НА ГЛУТАМІНСИНТЕТАЗНУ АКТИВНІСТЬ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*

*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна
e-mail: ivancherepashuk@gmail.com*

Cherepashuk I., Samoilov A. THE INFLUENCE OF SOME PHENOLIC ACIDS ON *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* GLUTAMINE SYNTHETASE ACTIVITY. Soil bacteria *Azospirillum brasilense* significantly increases yield, biomass and plant resistance. Its glutamine synthetase (GS) is a key enzyme in nitrogen metabolism. At the same time, cereal plants release a great number of phenolic acids in soil – 4-hydroxybenzoic, ferulic and 4-hydroxycinnamic in particular. Our data shows that cultivation of azospirilla in media with these compounds separately increase GS transferase activity, and ferulic acid in particular increases synthetase activity of GS. Further investigation on this topic is suggested.

Ґрунтова бактерія *Azospirillum brasilense* належить до азотфіксаторів групи PGRP (*plant growth promoting rhizobacteria*) та значно підвищує врожайність, біомасу та резистентність рослин [Fibach-Paldi et al., 2012]. Відомо, що *A. brasilense* експресує

фермент глутамінсинтетази, який є ключовим у клітинному азотному обміні [Antonyuk et al., 2007]. Задля ефективного утворення асоціативного азотфіксуючого комплексу рослини виділяють низку вторинних метаболітів у складі корневих ексудатів, які виступають у ролі сигнальних молекул. Злакові рослини виділяють у ґрунт значну кількість різних фенольних кислот, для яких показаний ряд фізіологічних ефектів щодо азоспірил. Серед цих кислот у пшениці одними з найпоширеніших є 4-гідроксибензойна, ферулова та 4-гідроксицинамова кислоти [Wu et al., 2001]. Проте даних про вплив цих сполук на азотний обмін *A. brasilense* немає.

Тому метою нашого дослідження було вивчити ефекти 4-гідроксибензойної, ферулової та 4-гідроксицинамової кислот на глутамінсинтетазну активність клітин *A. brasilense in vivo* за умов вирощування бактерій у безазотистому середовищі (умови діазотрофії).

Культуру *A. brasilense 410* вирощували у рідкому середовищі NFb [Eckert et al., 2001] впродовж 72 годин за 32 °C за наявності солей 4-гідроксицинамової, ферулової та 4-гідроксибензойної кислот у концентрації 0,3 мг/мл, після чого клітини збирали та проводили обробку задля підвищення їх проникності [Bender et al., 1977]. Підготовлену суспензію клітин додавали до реакційного середовища для визначення синтетазної та трансферазної активності глутамінсинтетази [Bender et al., 1977]. Реакцію зупиняли додаванням стоп-реагенту, після чого пробі центрифугували, а оптичну щільність розчину вимірювали за допомогою спектрофотометра. Отримані дані оптичної щільності перераховували на активність глутамінсинтетази за утворенням глутамілгідроксамату (мкмоль/хв).

Отримані дані вказують на значне підвищення активності трансферазної глутамінсинтетазної активності *A. brasilense* в умовах культивування у середовищах з додаванням усіх досліджуваних фенольних кислот порівняно з контролем. У той же час, активність синтетазної реакції підвищувалася тільки за умов культивування азоспірил з додаванням ферулової кислоти, проте вона була нижчою за активність трансферазної реакції.

Отже, можна зробити висновок, що фенольні кислоти корневих виділень злаків стимулюють підвищення трансферазної активності глутамінсинтетази, що вказує на підвищення рівня реакцій трансамінування у клітинах азоспірил під їх дією як компонентів корневих виділень пшениці. У той же час ефекти цих кислот на активність ферменту та механізми їх впливу потребують подальшого вивчення.

Шевченко Л.

ВПЛИВ МІКРОБНОГО ПРЕПАРАТУ ПОЛІМІКСОБАКТЕРИНУ НА ПОЛІПШЕННЯ ФОСФОРНОГО ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН КУКУРУДЗИ

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва
вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, 14027, Україна
e-mail: pinchuck.lyubov.an@mail.ru

Shevchenko L. THE INFLUENCE OF MICROBIAL PREPARATION POLIMIKSOBakteryn ON IMPROVEMENT THE PHOSPHORUS SUPPLY OF THE PLANT OF CORN. The use of microbial preparation Polimiksobakteryn in technologies of corn growing contributes to degree of mobility of phosphate in the soil rizosphere and the process of its assimilation by plants, which positively affects to the improvement of their phosphorus supply.

Кукурудза – високоврожайна культура, яка особливо ціниться в агропромисловому виробництві. Утворюючи масивну вегетативну масу і маючи довгий період вегетації, вона є вибагливою до наявності елементів живлення в ґрунті. Хоча рослинами кукурудзи фос-

фору поглинається менше ніж нітрогену, та все ж цей елемент є необхідним для формування кореневої системи та утворення генеративних органів [Зінченко, 2001].

Одним з ефективних способів забезпечення рослин рухомими формами фосфору є використання біопрепаратів створених на основі мікроорганізмів, які розчиняють важкодоступні сполуки фосфору ґрунту. В Інституті сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва було створено мікробний препарат Поліміксобактерин (біоагентом якого є фосфатомобілізувальні бактерії *Paenibacillus polymyxa* KB) для застосування при вирощуванні ряду сільськогосподарських культур [Токмакова, 1997, Шевченко, 2016]. Тому, вивчення дії Поліміксобактерину на фосфорне живлення рослин кукурудзи є досить актуальним.

Мета досліджень полягала у вивченні мікробіологічної трансформації фосфору у кореневій зоні рослин кукурудзи та особливостей їх фосфорного живлення за дії Поліміксобактерину. Дослідження проводили в умовах польового досліді на чорноземі вилуженому за схемою: 1 – контроль; 2 Поліміксобактерин (бактеризація насіння). У ході досліджень встановлено, що у кореневій зоні інокульованих рослин кукурудзи Поліміксобактерином, вміст P_2O_5 нижчий порівняно з контрольним варіантом, і був в межах 0,24–0,18 мг P_2O_5 /дм³ ґрунтового розчину, у контролі на рівні 0,34–0,21 мг P_2O_5 /дм³ залежно від фази розвитку рослин. Це вказує на активніше поглинання фосфору з ґрунту кореневою системою інокульованих рослин, завдяки підвищенню ступеню рухомості фосфатів під впливом інтродуктованих в агроценоз бактерій *P. polymyxa* KB.

Показником покращеного фосфорного живлення рослин кукурудзи є вміст фосфору в зерні, який зростає за дії бактеризації насіння і становив 0,58 % (у контролі 0,54 %). Відповідно, підвищувався і винос фосфору зерном та соломою. Так, його загальний винос з урожаєм зерна становив 43,7 кг/га у контрольному варіанті та 53,4 кг/га у варіанті з бактеризацією насіння, що свідчить про підвищення ефективності фосфорного живлення рослин кукурудзи.

Отже, застосування мікробного препарату Поліміксобактерину у технологіях вирощування кукурудзи сприяє підвищенню ступеня рухомості фосфатів у ризосферному ґрунті рослин і поліпшенню їх фосфорного живлення.

Шевчук Н.^{1,2}, Колісник Я.¹, Василюшин Р.²

**МОДИФІКАЦІЯ ГЕКСОЗНОГО ТРАНСПОРТЕРА HXT1 ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ
ЕФЕКТИВНОСТІ УТИЛІЗАЦІЇ КСИЛОЗИ ДРІЖДЖАМИ
OGATAEA (HANSENULA) POLYMORPHA ПІД ЧАС ВИСОКОТЕМПЕРАТУРНОГО
СПИРТОВОГО БРОДІННЯ**

¹Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського 4, 79005, Львів, Україна

²Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова 14/16, 79005, Львів, Україна

e-mail: nadia14shev@gmail.com

Shevchuk N.¹, Kolisnyk Ya.¹, Vasylyshyn R.² MODIFICATION OF THE HEXOSE TRANSPORTER HXT1 FOR IMPROVED UTILIZATION OF XYLOSE BY THE YEAST *OGATAEA (HANSENULA) POLYMORPHA* DURING HIGH-TEMPERATURE ALCOHOLIC FERMENTATION. For the last three decades biofuels produced from renewable feedstocks have received attention because of their potential to replace conventional fossil fuels. To increase the specific xylose uptake rate during high-temperature alcoholic fermentation Hxt1 was engineered in *O. polymorpha*. The modified versions of Hxt1 were overexpressed in *hxt1Δ* mutant and the efficiency of xylose and glucose co-utilization during high-temperature fermentation was studied. The mutagenesis of Hxt1 resulted in simultaneous utilization of both sugars during fermentation in obtained recombinant strains.

Усе більшої популярності набуває виробництво біопалива з відновлюваних ресурсів, зокрема лігноцелюлози (яка міститься в рослинній біомасі) як альтернативної заміни традиційного викопного палива. Оскільки в лігноцелюлозній сировині міститься значна кількість ксилози, важливим завданням є одержання мікроорганізмів, які можуть ефективно зброджувати цей пентозний цукор до етанолу.

Здатність термотолерантних метилотрофних дріжджів *Ogataea polymorpha* зброджувати ксилозу за температури до 50°C дозволяє розглядати їх як перспективні мікроорганізми для процесу одночасної цукрифікації та зброджування гідролізатів лігноцелюлози.

Проте, ефективність зброджування ксилози штамами дикого типу *O. polymorpha* є досить низькою. Пригнічення метаболізму ксилози відбувається внаслідок глюкозної каталітичної репресії та відсутності високоафінних ксилозних транспортерів. Транспорт ксилози в клітини дріжджів *O. polymorpha* забезпечується низькоафінними транспортерами Hxt, які мають вищу спорідненість до глюкози.

Метою наших досліджень є одержання штамів термотолерантних дріжджів *O. polymorpha* з модифікованим гексозним транспортером Hxt1 для підвищення ефективності зброджування ксилози.

Для підвищення питомої швидкості поглинання ксилози було модифіковано Hxt1 способом заміни аспарагіну на аланін в положенні 358. Крім того, було здійснено заміну залишків лізину на N-кінці білка, які є потенційними сайтами убіквітинування, на залишки аргініну.

Модифікований ген *HXT1* було введено в геном *hxt1Δ* мутантних дріжджів *O. polymorpha* та досліджено вплив модифікацій на ефективність утилізації ксилози і глюкози під час високотемпературного спиртового бродіння. Внаслідок здійсненого мутагенезу *HXT1* в отриманих рекомбінантних штамів дріжджів *O. polymorpha* вдалося досягнути одночасного використання обох цукрів під час спиртового бродіння.

Шегинська М., Юрочко М., Мороз О., Звір Г., Гнатюш С.

ВПЛИВ ГЕРБІЦИДІВ УРАГАНУ ТА РАУНДАПУ НА РІСТ,
УТИЛІЗАЦІЮ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ І СИНТЕЗ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННИХ
ВУГЛЕВОДІВ ФОТОТРОФНИМИ СІРКОБАКТЕРІЯМИ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: mariya.sheginska@ya.ru

Shegynska M., Jurochko M., Moroz O., Zvir G., Hnatush S. THE INFLUENCE OF URAGAN AND ROUNDUP HERBICIDES ON GROWTH, HYDROGEN SULFIDE UTILIZATION AND ENDOGENOUS CARBOHYDRATES SYNTHESIS BY PHOTOTROPHIC SULFUR BACTERIA. It was established that Uragan and Roundup herbicides at concentrations in medium 0.28–5.6 mM inhibited biomass accumulation and hydrogen sulfide oxidation by phototrophic sulfur bacteria *Thiocapsa* sp. Ya-2003, *Lamprocystis* sp. Ya-2003 and *Chlorobium limicola* IMB K-8, isolated from Yavoriv Lake, but stimulated glucose and glycogen synthesis by cells of phototrophic green sulfur bacteria.

Актуальною проблемою сьогодення є масштабне використання хімічних засобів захисту рослин, які за сучасних умов є постійнодіючим екологічним фактором в життєдіяльності ґрунтових і водних мікроорганізмів. На даний час активно застосовують до 600 пестицидів, для синтезу яких використовують понад 1500 хімічних сполук. Хімічні обробки у більшості випадків призводять до загибелі чутливих до певних препаратів видів мікроорганізмів і появи стійких до них штамів. Тому внаслідок звуження спектра метаболічної активності бактерій спостерігається порушення умов самоочищення екотопів [Шушкова и

соавт., 2012; Старчоус, 2014]. Фототрофні сіркобактерії відіграють важливу роль у відновленні рівноваги сполук сульфуру у водоймах, що утворились на місці кар'єрів колишніх сірковидобувних підприємств, зокрема, за рахунок використання гідроген сульфідів як донора електронів у процесі аноксигенного фотосинтезу [Кондратьєва, 1989]. Вплив гербіцидів на фізіологічні властивості цих бактерій вивчено недостатньо. Тому метою роботи було дослідити вплив гербіцидів Урагану та Раундапу на ріст, окиснення гідроген сульфідів та утворення глюкози і глікогену клітинами фотосинтезуювальних пурпурових та зелених сіркобактерій, виділених з озера Яворівське.

Фототрофні сіркобактерії *Thiocapsa* sp. Ya-2003, *Lamprocystis* sp. Ya-2003 і *Chlorobium limicola* IMB K-8 культивували у середовищі Ван Ніля [Гудзь і співавт., 2014] впродовж 10 діб за анаеробних умов, 25–28 °C та оптимального освітлення. Для вивчення впливу Урагану та Раундапу на нагромадження біомаси, утилізацію H_2S та синтез внутрішньоклітинних вуглеводів бактерії висівали у пробірки (густина засіву: 0,15 г/л), вирощували у середовищі з гербіцидами за різних концентрацій (0,28; 2,8 (рекомендована до використання); 5,6 мМ). Біомасу визначали турбідиметричним, вміст гідроген сульфідів – спектрофотометричним методом за утворенням метиленової сині [Гудзь і співавт., 2014]. Вміст глюкози та глікогену визначали у безклітинних екстрактах *C. limicola* IMB K-8 ферментативним методом за допомогою аналітичного набору “Діаглюк-2” [Гончар, 1998].

Встановили, що Ураган та Раундап за концентрацій 0,28–5,6 мМ пригнічують нагромадження біомаси бактеріями на 15–30 і 13–35 % відповідно. У середовищі без гербіцидів клітини використовували 94–98 % наявного у середовищі H_2S . Ураган за досліджених концентрацій інгібував інтенсивність окиснення H_2S бактеріями на 52–33 %. За впливу 2,8 мМ Раундапу спостерігали зниження рівня окиснення клітинами H_2S до 81–85 %, а за впливу 5,6 мМ – до 65–73 %. Найменш чутливими до негативного впливу гербіцидів за концентрації 5,6 мМ виявилися зелені фототрофні сіркобактерії. Показано, що внесення 0,28–5,6 мМ Урагану та Раундапу у середовище культивування бактерій *C. limicola* IMB K-8 спричиняє підвищення рівня синтезу ними ендогенних вуглеводів.

Отже, встановлено, що Ураган та Раундап за концентрацій 0,28–5,6 мМ у середовищі пригнічують ріст та інтенсивність окиснення H_2S фототрофними пурпуровими та зеленими сіркобактеріями, але стимулюють синтез глюкози й глікогену клітинами *C. limicola* IMB K-8.

Buyun L.¹, Tkachenko H.², Osadowski Z.², Guralczyk A.², Kovalska L.¹, Gyrenko O.²
PRELIMINARY SCREENING OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CRUDE EXTRACTS
OF *COELOGYNE SPECIOSA* (BLUME) LINDL. (*ORCHIDACEAE*)
AGAINST OPPORTUNISTIC MICROORGANISMS

¹M.M. Gryshko National Botanical Garden, National Academy of Science of Ukraine
Kyiv, Ukraine; e-mail: buyun@nbg.kiev.ua

²Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk
Poland; Arciszewski Str. 22B, 76-200 Slupsk, Poland
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl, biology.apsl@gmail.com

Orchids belong to the largest family of angiosperms, with approximately 880 genera and 27,800 species [Givnish et al., 2016]. Today, nearly 50 orchid species are widely used in different systems of medicine [Panda and Mandal, 2013]. Some of the species like *Vanda tessellata* (Roxb.) Hook. ex G. Don, *Dactylorhiza incarnata* subsp. *incarnata*, *Dendrobium nobile* Lindl. have been already documented for their proven medicinal values [Kong et al., 2003]. The reported biological activities of orchids include diuretic, antiangiogenic, anti-rheumatic, anti-inflammatory, anti-carcinogenic, hypoglycemic, antimicrobial, anticonvulsive, immunomodulating, relaxation, hepatoprotective, neuroprotective, antihypertensive, and antimalarial, activities [Perez

Gutierrez, 2010, Teixeira da Silva and Ng, 2017]. Pseudobulbs are most commonly used to cure ailments, followed by leaves, roots, tubers/rhizomes and flowers. Major local uses include aphrodisiacs, energizers, and treatments of skin burns, fractured or dislocated bones (both of humans and cattle), headaches, fever, and wounds. Other uses include insect repellent, blood purifier, skin fungi, antidote against snake bites and scorpion stings, inducement of abortions and recovery from child birth. Orchids are mainly used as paste, powder or juice, solely or mixed with milk, honey or wheat flour. Moreover, many species of *Orchidaceae* family also possess antimicrobial activity [Perez Gutierrez, 2010]. The demand for the use of orchids for medicinal properties has increased considerably over the period of time [Sunita Shailajan et al., 2015]. Therefore, the present study has been designed to determine the antimicrobial activity of the crude extracts obtained from leaves and pseudobulbs of *Coelogyne speciosa* prepared in different solvent systems against *Staphylococcus aureus*, a clinically important microorganism responsible for many infections, as well as against *Escherichia coli* to support the use of these extracts as novel natural products for compounded bacterial-treatment modalities.

The leaves and pseudobulbs of *C. speciosa* plants, cultivated under glasshouse conditions, were sampled at M.M. Gryshko National Botanical Garden (NBG), National Academy of Science of Ukraine. Since 2001, the whole collection of tropical and subtropical plants (including orchids) has the status of a National Heritage Collection of Ukraine. Besides that, NBG collection of tropical orchids was registered at the Administrative Organ of CITES in Ukraine (Ministry of Environmental Protection, registration No. 6939/19/1-10 of 23 June 2004). Freshly leaves and pseudobulbs were washed, weighted, crushed, and homogenized in 96% ethanol, methanol, ethyl acetate, hexane, and dichloromethane (in proportion 1:19) at room temperature. Different solvents can be used for the extraction of plant compounds based on polarity. Consequently five kinds of solvent systems were used to extract the active ingredients from the leaves and pseudobulbs of *Coelogyne speciosa*. Antimicrobial activity was determined using the agar disk diffusion assay (Bauer et al. 1966). Cultures of *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Escherichia coli* (ATCC 25922) were suspended in sterile solution of 0.9% normal saline and the turbidity adjusted equivalent to that of a 0.5 McFarland standard. Culture was inoculated onto Mueller-Hinton (MH) agar plates. Isolates of bacteria were then incubated at 37°C for 24 h. Zone inhibition diameters were determined and averaged.

The results revealed the antimicrobial potential of ethanolic extracts. All the test organisms were susceptible to ethanolic extracts obtained from leaves and pseudobulbs of *C. speciosa* with inhibition zone diameter between 12 and 21.5 mm. *E. coli* was more resistant to ethanolic extracts obtained from leaves and pseudobulbs of *C. speciosa* and the diameter of inhibition zone around the rest ranged from 11 to 13.5 mm. It is well known, that the antibacterial activity of plant extracts depends on the bioactive secondary metabolites available in the plant part. The active principles of orchids include a wide range of proteinaceous and non-proteinaceous molecules [Teixeira da Silva and Ng, 2017]. Moreover, a number of phytochemicals such as alkaloids, bibenzyl derivatives, flavonoids, phenanthrenes etc. have been reported from orchids. Presence of these phytochemicals provides antimicrobial, antitumor, anti-inflammatory, antiviral activities, etc. A number of members of orchid family are used as potent inhibitor against bacteria and also proved to be a potent antimicrobial agents. The methanolic extract from different parts of orchids has shown antimicrobial activity. A broad spectrum antibacterial activity (24 bacteria and protozoan) was exhibited by *Pseudovanilla foliata* (syn. *Galeola foliata*) leaves and stem bark extracted with petrol, dichloromethane, ethyl acetate, butanol and methanol. Notably, a very good level of activity was demonstrated by the dichloromethane and ethyl acetate fractions [Khan and Omoloso, 2004].

The examined ethanolic extracts obtained from leaves and pseudobulbs of *C. speciosa* showed different patterns of antibacterial activities towards various tested bacterial isolates, while

methanol, ethyl acetate, hexane, and dichloromethane extracts had no antibacterial activities. The ethanolic extracts from leaves exhibited remarkable antimicrobial activity against *S. aureus* and *E. coli* (inhibition zone diameter were 21.5 and 20 mm). The observed activity may explain the reasons why the leaves are used for infectious and inflammatory conditions in ethnomedicine. The research showed that ethanolic extracts of *C. speciosa* possess antibacterial potency against *S. aureus* and *E. coli*. These findings led the authors to suggest that these extracts may be used as a natural antiseptics and antimicrobial agents in medicine and veterinary practice. Nevertheless, despite the promising results, more research should be carried out to further evaluate the roles of particular compounds, isolated from all parts of orchid plants, attributable to antimicrobial activity.

Buyun L.¹, Tkachenko H.², Osadowski Z.², Belayeva Y.¹

**BACTERIAL INHIBITION ACTIVITY OF THE ETHANOLIC EXTRACTS
OBTAINED FROM LEAVES OF VARIOUS *BEGONIA* SPECIES AGAINST
ESCHERICHIA COLI STRAIN**

¹*M.M. Gryshko National Botanical Garden
National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine
e-mail: buyun@nbg.kiev.ua*

²*Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk
Poland Arciszewski Str. 22B, 76-200 Slupsk, Poland
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl, biology.apsl@gmail.com*

Antimicrobial properties of medicinal plants are being increasingly reported from different parts of the world. In an effort to expand the spectrum of antibacterial agents from natural resources, genus *Begonia* belonging to *Begoniaceae* family has been selected, because among plant-based antimicrobials, the antimicrobial activity of *Begonia* species has been well studied [Jeeva et al., 2012; Indrakumar et al., 2014]. Moreover, the leaves of *Begonia* species are used for the treatment of cancer [Alonso-Castro et al., 2011]; besides, they possess the anti-HIV activity [Wu et al., 2004]. Some of the plants of the genus *Begonia* were previously reported for their antimicrobial activities. Considering the points highlighted above and based on previous results obtained in our laboratory, in the present study, we propose to evaluate the antimicrobial effects of ethanolic extracts obtained from leaves of nine *Begonia* species against *Escherichia coli* strain.

The leaves of *B. solimutata* L.B. Sm. & Wassh., *B. goegoensis* N.E. Br., *B. foliosa* Kunth, *Begonia x bunchii* L.H. Bailey (syn. *Begonia x erythrophylla* Hřřincq), *B. thiemei* C.DC., *B. peltata* Otto & Dietr., *B. heracleifolia* Cham. & Schltdl., *B. dregei* Otto & Dietr., *B. mexicana* G. Karst. ex Fotsch were sampled for study. Freshly leaves were washed, weighted, crushed, and homogenized in 96% ethanol (in proportion 1:19) at room temperature. The extracts were then filtered and investigated for their antimicrobial activity. *In vitro* evaluating antimicrobial activity was performed with the agar disk diffusion assay [Bauer et al., 1966]. Culture of *Escherichia coli* (ATCC 25922) was suspended in sterile solution of 0.9% normal saline and the turbidity adjusted equivalent to that of a 0.5 McFarland standard. Culture was inoculated onto Mueller-Hinton (MH) agar plates. Sterile filter paper discs impregnated with extracts were applied over each of the culture plates. Isolates of bacteria were then incubated at 37°C for 24 h. Zone inhibition diameters were determined and averaged.

The present study has shown that ethanolic extracts obtained from leaves of *Begonia* species displayed moderate activity against *E. coli*. The diameters of inhibition zone for *B. solimutata* were 14 mm, 11.5 mm for *B. goegoensis*, 13 mm for *B. foliosa*, 13.5 mm for *Begonia x bunchii*, 15 mm for *B. thiemei*, 19 mm for *B. peltata*, 12 mm for *B. heracleifolia*, 11.5 mm for *B. dregei*, and 16 mm for *B. mexicana*. The highest antimicrobial effect was recorded for *B. peltata*, *B. mexicana*, and *B. thiemei*. The most antimicrobially effective plant against *E. coli* was *B. peltata*,

being highly active with the ethanolic extract (diameter of inhibition zone was 19 mm). The highly active antimicrobial effects noted against *E. coli* are worthy of highlighting. Phytochemical constituents in the plant samples are known to be biologically active compound and they are responsible for different patterns of activities such as antioxidant, antimicrobial, antifungal, and anticancer. It is evident, that all secondary metabolite components displayed antioxidant and antimicrobial properties through different biological mechanisms. The obtained results highlighted the interesting antimicrobial potency of various *Begonia* species and provided scientific basis for the traditional use of these plants in the treatment of microbial infections. On the basis of the results obtained in the present study, it is concluded that ethanolic extracts of *Begonia* species have antibacterial activity and may have potential medical use. Therefore, these findings have suggested that the crude ethanolic extract obtained from *Begonia* species may be considered among the most promising agents against bacterial microbial infections caused by *E. coli*. The identification of precise molecular mechanism addressing how these extracts inhibit bacterial growth are need to be explored. We believe that the present paper adds knowledge about antimicrobial properties of plants in general and for *Begonia* species in particular.

Demchenko D.,¹ Tymoshenko A.²

THE IMPACT OF THYMIC MULTIPOTENT STROMAL CELLS TRANSPLANTATION
TO IMMUNE SYSTEM REGENERATION AFTER CYCLOPHOSPHAMIDE

¹*State Institute of Genetic and Regenerative Medicine NAMS of Ukraine
67, Vyshgorodska Street, Kyiv, Ukraine, 04114*

²*Educational and Scientific Center "Institute of Biology," Taras Shevchenko National
University in Kiev, ave. Akademika Glushkova, 2, Kyiv, 03022, Ukraine
e-mail: demchenko_dasha_@ukr.net*

Directional influence on the immune reactivity is an important task to resolve existing immunotherapy problems. Currently, special attention is focused on the study of immunotropic stem cells action and on the creation of new treatment approaches which are based on cell transplantation. Multipotent stromal cells (MSCs) form the appropriate microenvironment for hematopoietic stem cells (HSC) in the bone marrow. But the effects of MSCs in the periphery regarded primarily as immunosuppressive. However, sometimes they can have a positive immunoregulatory effects. Perhaps MSCs could neutralize deep cyclophosphamide (CP) damage on the immune system or might accelerate regeneration due to its supportive impact on HSC.

The aim of the study was to explore the effect of thymic MSCs transplantation on the immune system regeneration after cyclophosphamide treatment. Groups of C57BL mice were given intraperitoneal injections of 200 mg/kg CP. Thymic MSCs (5×10^4) or physiological solution were given by intravenous injections to the retroorbital sinuses at 2 hours after treatment. The parameters of blood, thymus, spleen, bone marrow, phagocytosis by peritoneal macrophages, natural cytotoxic activity, antibody production, delayed hypersensitivity reaction on day 12 were identified. The cell cycle stage and apoptosis were determined by flow cytofluorometry using propidium iodide.

The relative thymus weight reduced, and spleen weight significantly increased at 12 days after CP administration. But the number of spleen cells was reduced, apparently due to increased blood supply and swelling of the spleen in response to the toxic effects of CP. After thymic MSCs transplantation number of spleen cells was normal and proliferative activity of splenocytes was increased. The cells number of mesenteric lymph nodes and bone marrow similar restored in this animals group. Together it may indicate functional recovery. The level of apoptosis after the CP had tendency to increase. It was unchanged after injections of thymic MSCs, which might prevent apoptosis of mature lymphoid cells. Thus the number of normal cells was preserved.

Thymic MSCs had marked positive impact on macrophages phagocytic activity, bactericidal activity, proliferative activity and natural cytotoxicity. In the animals group with transplanted cells significant stimulation of antibody-forming cells and a slight increase in hemolysins and hemagglutinins levels were observed.

Consequently, thymic MSCs transplantation has a positive effect on the regeneration of the CP damaged immune system.

Dovgiy R.^{1,2}, Nikolsky I.³

**ARGININE METABOLISM OF MACROPHAGES FROM MICE OF DIFFERENT AGE
UPON COCULTURE WITH MESENCHYMAL STROMAL CELLS**

¹ Education-Scientific Center "Institute of Biology" of Taras Shevchenko National University of Kyiv
2, Glushkova str., Kyiv, 03022, Ukraine

² Institute of Gerontology AMS of Ukraine
67, Vyshgorodska str., Kyiv, 04114, Ukraine

³ State Institute of Genetic and Regenerative Medicine NAMS of Ukraine
67, Vyshgorodska str., Kyiv, Ukraine
e-mail: romandovgiy@gmail.com

Anti-inflammatory action of mesenchymal stromal cells (MSC) makes them appropriate candidates for the treatment of age-related disorders, great majority of which caused by chronic inflammation. Macrophages play important role in initiation and resolution of inflammation. The differential metabolism of arginine is often used to discriminate between pro- and anti-inflammatory macrophages. We aimed to study the ability of MSC obtained from young mice to modulate arginine metabolism in macrophages from old animals. Bone marrow monocytes from young and old mice were cocultured with MSC in M-CSF-containing medium. Nitric oxide production was analyzed in supernatants by Griess reaction and arginase activity was measured in cell lysates. We found that arginase activity was significantly higher in macrophages from young mice as compared to aged animals ($p < 0.05$). Arginase activity in macrophages from young and aged mice increased significantly upon cocultivation with MSC ($p < 0.001$). There wasn't significant difference in nitric oxide level between groups. Thus, MSC with the same efficiency stimulated anti-inflammatory metabolic profile of macrophages from young and old mice.

Holovan V., Andriychuk E.

**VIRUSES OF MICROORGANISMS IN ARGENTINA ISLANDS REGION
THAT UNDERGO EXTREME CONDITIONS**

*Taras Shevchenko National University of Kyiv
64/13 Volodymyrska str., Kyiv, 01601, Ukraine
e-mail: vichko.himichko@gmail.com*

Much attention is paid to organisms that live in extreme conditions. Antarctica is one of such conditions. Recent research has focused not only on the description of indigenous biota, but also on the exploring the whole biological system, interactions between the elements in it, and moreover, the effects of foreign representatives on it.

There is almost no data on the spread and diversity of bacterial viruses in Antarctic soils. Extraction of phages, which functionate at low temperatures, is extremely interesting and important for science, though it has some methodological difficulties. Climate of archipelago creates unique ecological diversity of species. Poor vegetation and low average temperature might cause severe restrictions for bacterial reproduction.

The aim of the survey is to create a database on Antarctic organisms (viruses, microorganisms), which are resistant and adapted to the extreme Antarctic factors.

Analyzed samples were the basal layer of soil of *Deschampsia antarctica* and *Colobanthus quitensis*, selected during seasonal work in 2015 on the Ukrainian Antarctic station. The sterile material (5 g) was collected and put into 50 ml 0.1 M Tris-HCl buffer. The sterile material (5 g) was collected and put into 50 ml 0.1 M Tris-HCl buffer. The filtrate was centrifuged for 2 hours, 32 thousand rpm. The sediment from each tube was resuspended in 0.5 ml 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 7.0). Bacterial cultures were grown on nutrient agar and liquid broth (1.5% and 0.7%).

The phages were detected by direct inoculation. The titers were measured in plaque-forming units per ml (PFU/ ml) via Gratia agar technique. The concentrated phage preparations were analyzed by electron microscopy.

Samples of soil and moss were selected from different areas of the Galindez Island. Samples were collected and kept in sterile packages in freezers. All further studies were conducted after delivery of the samples to Ukraine. Negative colonies had different sizes (0,1-5 mm), morphology (clear, cloudy, with halo) and of quickness of spots formation (6-24 year), and on the whole showed the presence of bacteriophages.

Research of the phages showed significant diversity by structural features, making it possible to create taxonomic groups of it according to the recommendations of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Thus isolated phages were divided into two groups:

- phages with icosahedral head and long non-contractile tail were assigned to *Siphoviridae* family, B1 morphotype, *Caudovirales* order.

- phages with icosahedral head and short tail were assigned to *Podoviridae* family, C1 morphotype, *Caudovirales* order. The presence of lytic activity in samples were analyzed on 5 indicator strain extracted from the Antarctic soil samples. All studied phages turned to be monovalent.

Conducting of such research is actual both for the conservation of phage populations in extreme conditions and for analysis of their evolution. In particular, the identification of phage lytic activity to phytopathogenic bacteria allows to predict the presence of specific mechanisms which allow to acquire the adaptation to new hosts and spread in bacterial populations.

Creating the collections of genetically - homogeneous phages, which are still active in terms of low temperatures, is scientifically valuable gene pool of viruses. It is possible, that Antarctic phages much more effectively control the quantity of pathogenic bacteria. The ecosystems of temperate latitudes did not pass through the evolutionary adaptation to phages, and possibly, phages are capable to limit or almost completely destroy sensitive strains of pathogens in natural centers.

Ivanova T.¹, Megalinska G.², Titova L.³

**TRAMETES VERSICOLOR AND SCHIZOPHYLLUM COMMUNE MYCELIA
IN SUBMERGED CULTIVATION ON BREADCRUMB**

¹*Institute of Food Biotechnology and Genomics NAS of Ukraine*

2A, Osipovskogo str., Kyiv, 04123, Ukraine

²*National Pedagogical M.P. Dragomanov University, 9, Pirogova str., Kyiv, 01601, Ukraine*

³*National Technical University of Ukraine "Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute"*

37, Peremogy ave., Kyiv, 03056, Ukraine

e-mail: ivanova_tatiana_wat2@bigmir.net

Medicinal mushroom mycelia possess immunomodulating, antimicrobial, antiviral and other activities [Wasser *et al.*, 1999]. Mushrooms also serve as a potent source of protein, vitamins and microelements [Cheung, 2008]. At the same time, mushrooms in nature may contain poisons, radionuclides, and heavy metals. Artificial cultivation on safe, cheap media with known composition can result in obtaining of biomass exclusive of harmful components and with health benefits for humans. The purpose of the present work was to investigate amino acid composition and Caesium-137 content of *Schizophyllum commune* Fr.: Fr. and *Trametes versicolor* (L.: Fr.)

Quel. mycelia grown in submerged conditions on the waste of bread production – breadcrumb.

S. commune 1768 and *T. versicolor* 353 were kindly supplied by the Culture Collection of Mushrooms from M. G. Kholodny Institute of Botany NAS of Ukraine (IBK) [Bukhalo *et al.*, 2011]. Breadcrumb was obtained from Bread Plant № 12 of the Open Joint-Stock Company “Kyivkhlіb”, Kyiv, Ukraine. The mycelia of *S. commune* and *T. versicolor* were grown in flasks on a rotary shaker (120 rpm) at 28 ± 2 °C until cultures reached maximal biomass (4 and 5 days of cultivation accordingly). The liquid media consisted of breadcrumb and water with following concentrations of breadcrumb: 60 g/l for *S. commune* and 50 g/l for *T. versicolor*. Nitrogen content was evaluated by Kjeldahl method, protein conversion factor was 4.38 for fungal mycelia and 5.75 for the substrate. The ratio of amino acids in test proteins was estimated on amino acid analyzer T-339 “Mikrotechna” (Czech Republic). The Amino Acid Score (AAS), Essential Amino Acid Index (EAA), Predicted Biological Value (BV), and Nutritional Index (NI) were evaluated by the formulas [Crisan *et al.*, 1978]: $AAS = (\text{mg amino acid} / \text{mg test protein}) / (\text{mg amino acid} / \text{mg reference protein}) \times 100\%$; $EAA = (\text{essential amino acid content in test protein} / \text{essential amino acid content in a reference protein}) \times 100\%$; $BV = 1.09 \times EAA - 11.7$; $NI = (EAA \times \text{percentage protein}) / 100$. The specific activity of Cs^{137} was measured using ADANI RUG 91 Radiometer (the Republic of Belarus).

The protein content was $18.83 \pm 0.10\%$ in *S. commune* 1768, 19.85 ± 0.10 in *T. versicolor* 353, and 10.94 ± 0.60 in the breadcrumb, the essential amino acid content in proteins was 41.40, 37.38, and 26.63 correspondingly. The nutritional values of fungal and substrate proteins are shown in the Table.

Table. The nutritional values of fungal and substrate proteins

Samples	AAS (with limiting amino acids)	EAA, %	BV, %	NI, %
<i>S. commune</i> 1768	98 (Isoleucine, Lysine)	96.67	93.67	18.20
<i>T. versicolor</i> 353	71 (Isoleucine)	88.06	84.29	17.48
Breadcrumb	24 (Lysine)	50.28	43.11	4.72

The specific activity of Cs^{137} was 51 ± 5 Bq/kg in *S. commune* 1768 mycelium, 12 ± 2 Bq/kg in *T. versicolor* 353 mycelium, and 48 ± 5 Bq/kg in the breadcrumb. According to Ukrainian State Hygienic Standards “The permissible levels of Cs^{137} and Sr^{90} radionuclides in food and drinking water”, the maximal specific activity of Cs^{137} for medicinal plants, herbal tea and dietary supplements can be 200 Bq/kg, for fresh mushrooms 500 Bq/kg, and for dried mushrooms 2500 Bq/kg.

The results of our investigation have shown that *S. commune* 1768 and *T. versicolor* 353 mycelia comprise proteins with high nutritional values (especially *S. commune* 1768) and essential amino acid content in submerged cultivation on the breadcrumb. At the same time, Cs^{137} specific activity in mycelia cultivated on the breadcrumb is low and conforms to Ukrainian state standards.

Kolodii O., Tsyurulnyk A., Yavorska H.

CONSTRUCTING OF RECOMBINANT STRAINS OF *CANDIDA FAMATA* YEAST ABLE TO SYNTHESIZE AMINORIBOFLAVIN AND INVESTIGATION OF THEIR PROPERTIES

Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskogo St., Lviv, 79005, Ukraine
e-mail: olena.kolodiy95@gmail.com

Antibiotic roseoflavin and its biosynthetic precursor 8-demethyl-8-aminoriboflavin (AF) are produced by gram-positive bacteria *Streptomyces davawensis* and *Streptomyces cinnabarinus*. AF shows a strong antibiotic effect on bacteria *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* and *Micrococcus luteus* and is less toxic to mammal cells than roseoflavin. Getting into target cells through the riboflavin transport system, AF forms analogs of flavin cofactors, namely aminoflavin-mono-nucleotide and aminoflavin-adenine-dinucleotide that contain a number of flavin-

dependent proteins and block their function causing cell death. Another mechanism of action of these compounds is binding to Riboswitch element, which leads to a deficiency of riboflavin in the cell, and therefore its death. Fortunately, human riboflavin transport systems, unlike bacterial, are not able to transport the AF, which makes it a promising drug against bacteria strains which are multiresistant to antibiotics. Production of AF on an industrial scale by recombinant microorganisms has great scientific and practical value because today flavins are received only by chemical synthesis. Since AF synthesized from flavinmononucleotide (FMN), which is formed from riboflavin (RF), application of FMN/RF yeasts overproducers as basic strains for construction of AF producers gives great advantages.

The aim of this work was to achieve the heterologous expression of the key gene of AF biosynthesis *rosB* *S. davawensis*, encoding 8-dimethyl-8-aminoryboflavin-5'-phosphate synthetase in the FMN overproducer strain of *Candida famata* yeast. In this work we used standard molecular genetic techniques [Pedrolli, 2014]. Genomic DNA was isolated from yeast using Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, WI, USA). *S. davawensis* *rosB* gene with the sequence of nucleotides adapted for expression in *C. famata* was synthesized by BioCat GmbH (Heidelberg, Germany). Restriction enzyme and ligase were used according to manufacturer's instructions (Fermentas, Vilnius, Lithuania). Isolation of plasmid DNA from *E. coli* bacteria was performed using Wizard® Plus SV Minipreps DNA Purification System (Promega, Madison, WI, USA). Polymerase chain reaction (PCR) was performed on Thermocyclers GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) using Platinum® Taq DNA Polymerase High Fidelity (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) according to manufacturer's instructions. Transformation of yeast *C. famata* was carried out by electroporation [Voronovsky et al., 2002].

In this work we used the recipient *C. famata* 13-76-FMN-19 IMB Y-5028 strain in which we transformed HindIII-linearized pTb_RosB plasmid. 30 transformants was received and tested for the ability to produce AF using the method of chromatographic separation of flavin pigments which yeast accumulated in culture fluid. As control culture fluid of *S. davawensis* and recipient strain were used. The transformed strains were stabilized, and the presence of gene expression cassette in their genome was confirmed by PCR. Some of the transformants accumulated pigment like AF. Introduction of AF biosynthesis genes from the bacterial strain *S. davawensis* into the RF/FMN overproducing yeast strains of *C. famata* opens the new opportunities for constructing of AF overproducers.

Kosenko L., Tymchyhyn O., Kharina A.

EVALUATION OF VIRUCIDAL ACTIVITY OF PREPARATION
FROM THE EXUDATE OF CASTOR SACS OF CASTOR FIBER USING
BACTERIA-BACTERIOPHAGE TESTING SYSTEM

*Taras Shevchenko National University of Kyiv
64/13, Volodymyrska Str., Kyiv, 01601, Ukraine
e-mail: kosenko1@gmail.com*

The exudate from the castor sacs called castoreum is used by beavers to scent mark territory. Castoreum has largely been used in medicine as a treatment for many ailments of cardiovascular system, neurotic involvement, weakening of sexual function and diseases of urogenital apparatus. It has analgesic, anti-inflammatory, and antipyretic activity. In current project it was aimed to evaluate virucidal activity of the exudate of castor sacs in test-system bacteriophage-bacteria.

Beaver's castor gland was extracted from 4-years male beaver. Then native musk was obtained. Taking into consideration the recipes of folksy remedy, it was decided to use native

musk, aqueous and ethanol solution of the exudate from the castor sacs. Following test-system was used: *Enterobacter cloacae* – bacteriophage isolate *EclI*, obtained in lab conditions. Bacteriophage isolate was obtained from plant samples collected in Ukrainian agro-ecosystem. Further, virus extraction was carried out and titer of virus was determined by spot-test. To evaluate virucidal activity the preparations of castoreum and bacteriophage were planted on bacterial lawn by agar overlay method. Aqueous and ethanol solution were used as controls. Negative colonies were counted after 24 hours of incubation. Experiment was repeated several times with beaver's castor gland from different 4-years male beaver, since chemical composition of castoreum depends on different parameters.

Only ethanol solution of castoreum decreases bacteriophage activity of isolate *EclI*. Ethanol solution has no effect on bacteriophage activity; therefore, decline of bacteriophage activity was caused by components of castoreum. Native musk has no effect on bacteriophage activity. Aqueous solution also wasn't active against bacteriophages.

Obtained results show the potential of the preparations of castoreum as antiviral agents. Moreover, it was developed method for obtaining castoreum without killing beaver. In future we plan to evaluate the effect of the exudate from the castor sacs on enveloped viruses.

**Loseva D.^{1,2}, Voronkevych M.^{1,2}, Sagan I.³, Melnykova O.^{1,3}, Voronkova O.²,
Babenko L.¹, Lazarenko L.¹, Spivak M.¹**

**THE CHANGE IN THE RATIO OF MICROORGANISMS OF DIFFERENT TAXONOMIC
GROUPS IN THE GUT OF MICE UNDER THE INFLUENCE OF FAT ENRICHED DIET**

¹D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NAS of Ukraine
154 Akad. Zabolotny str., 03680, Kyiv, Ukraine

²Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, 72 Gagarina av., 49010, Dnipro, Ukraine

³Institute of Biology and Medicine of Taras Shevchenko Kyiv National University
2 Akad. Glushkova av., 03680, Kyiv, Ukraine
e-mail: darinalosieva@mail.ru

Obesity in adults and children is a global epidemic in most countries of the world, considered as the main risk factor for non-infectious diseases, such as diabetes, cardiovascular diseases [Gortmaker, 2011]. According to many experimental and clinical studies revealed the link between disorder of metabolism of cholesterol and other substances in such metabolic diseases as obesity and changes in gut microbiota [Caricilli, 2014], which is manifested primarily in increase in the number of gram-positive *Firmicutes* and decrease in the number of gram-negative *Bacteroidetes* [Turnbaugh, 2008]. The important role of gut microbiota in the development of metabolic diseases has previously been confirmed in experimental models of obesity in mice. Given this, further studies of the role of gut microbiota in metabolic disorders in cases of obesity are a promising direction of their diagnosis and prognosis and creating new approaches to the treatment of patients.

The aim of this work was to determine the change in the ratio of microorganisms of different taxonomic groups in the gut of mice under the influence of the fat enriched diet.

Experimental studies were conducted on female BALB/c line mice at the age of 6-8 weeks (17-24 g) from vivarium of D.K. Zabolotny Institute of microbiology and virology of NAS of Ukraine. To simulate obesity, mice during 3 weeks obtained the fat-enriched diet (FED), composed of fats – 60%, proteins – 20% and carbohydrates – 20%. From the next day (1st day of the study), these mice started to receive standard full mixed feed. The dynamic of changes of gut microbiota spectrum was determined during 30 days after FED ended. The number of microscopic fungi (on the Sabouraud Agar), coliform bacteria (on the ENDO agar), staphylococci (on the BAIRD-PARKER-Agar, Merck, Germany) and streptococci (on the KF-STREPTOCOCCUS-

Agar, Merck, Germany) were defined in the intestine contents (colony forming units (CFU)/mg). Petri dishes with aliquots were cultivated in aerobic conditions at 37 ° C for 48 hours.

It was shown that on the 4th day after mice on FED started to receive standard full mixed feed, the number of staphylococci (4.11 ± 0.11 against 2.65 ± 0.09 Lg (CFU/mg) in intact mice), streptococci (6.75 ± 0.12 against 3.25 ± 0.05 Lg (CFU/mg) in intact mice) and microscopic fungi (3.19 ± 0.07 against 2.77 ± 0.05 Lg (CFU/mg) in intact mice) in the gut significantly increased in comparison with intact mice that obtained standard full mixed feed during the whole experiment. During the next period of observation (30 days), the number of staphylococci and streptococci in the gut did not decrease to the level of intact mice. However, the number of microscopic fungi decreased to the level of intact mice on the 15th day after the end of the diet. It should also be noted that the level of coliform bacteria in the gut of mice that obtained FED, decreased from 9th day after mice started to receive standard feed, and remained lower than in intact mice gut during the whole observation period.

Based on the obtained results, we can make the conclusion that our diet with excess fat causes significant disturbances in the mice intestinal microbiota spectrum – we observed qualitative and quantitative changes in composition of microorganisms, which were detected during month after mice started to obtain standard diet. The developed model is promising for study the role of gut microbiota in metabolic disorders in obesity and for developing new aspects of diagnostic and treatment of patients based on correction of intestinal microbiota.

Negray D.

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF CYANOPHAGE TRANSPOSASES AND THEIR HOSTS

*Taras Shevchenko National University of Kyiv
64/13, Volodymyrska Str., Kyiv, Ukraine, 01601
e-mail: denisng.public@gmail.com*

Viruses that infect all kinds of prokaryotic photosynthetic freshwater cyanobacteria such as *Nostoc*, *Anabaena*, *Microcystis*, and *Lyngbia* and play a great role in ecological importance including approval of various elements. For example, huge amount of freshwater reservoirs are used by humans. Freshwater reservoirs also include artificial freshwaters that were created for different purposes such as fishing industry.

Cyanophages are great regulators of cyanobacteria nature growth and reproduction of populations and are essential in the process of algal bloom.

Notably, local ecosystems suffer from poisonous compounds produced by some cyanobacteria. Despite the fact that phages are able to lyse cyanobacteria, those two can enter "arm race" that leads to tangling relationships between viruses and algae and overcome effective "bloom" process. Transposons or mobile genetic elements, represent main mechanism involving transfer of genetic information between virus and their host. It stands to mention, that a virus encoding transposons are most important during gene transfer.

That's why, my main purpose was detail analyses of mobile genetic elements in cyanophages. To solve this task, I used a special and biggest international protein database - UniProt which contain the amino acid sequence of different proteins. Data selection was picked from amino acid sequences of cyanobacteria and cyanophages. The alignment of those sequences was carried by ClustalO algorithm. Then, it was conducted searches of homological sequences of cyanobacteria and cyanophages by using of BLATP statistical analyses. After that, a phylogenetic tree was built for a transposase gene with "maximum likelihood" algorithm.

This analysis shows that transposase from those three samples of *MA-LMM01* has a little homology between those phage. Moreover, each transposase protein in each cyanophage respectively has a separate branch of homology. This concludes us, about independent origin of each transposase in each those cyanophages samples.

Pokhylko Yu., Kravchenko N.

PROPERTIES OF PROBIOTIC BACTERIA
ISOLATED FROM THE GASTROINTESTINAL TRACT OF RABBITS

*Institute of agricultural microbiology and agroindustrial manufacture NAAS
97, Shevchenko str., Chernigiv, 14027
e-mail: pohilko.yura@gmail.com*

In our time of occurrence of the acute problem of antibiotic-resistant pathogenic and opportunistic pathogenic microorganisms, encourages the search for new means of combating bacterial infections of animals. The result is an intensive introduction to the veterinary medicine probiotics. Also, the use of probiotics in animal husbandry is of relevance to public health as a whole, reducing the risk of disease of people and improving the environmental safety of agricultural products.

However, probiotics for rabbits, which are represented on the market today are the universal, or are composed of representatives of facultative microflora, so urgent task is the development of probiotic preparation for rabbits based on representatives of obligate microflora of the gastrointestinal tract of these animals.

A promising group of microorganisms to create probiotic products for rabbits are bacteria of the genus *Lactobacillus*, that have the status of «GRAS» - «Generally Recognised as Safe», that is, their use is completely safe. Also, we have established that the number of lactic acid bacteria in the gastrointestinal tract of rabbits is greater than the number of bifidobacteria, and therefore their functional role is more significant.

Objective: To isolate and identify lactic acid bacteria from the digestive system of rabbits. Explore their probiotic properties.

In the period from 2014 to 2016 were isolated 250 isolates of lactic acid bacteria from the gastrointestinal tract of rabbits. These bacteria were Gram-positive rods, fixed, did not exhibit catalase activity, do not form spores, does not reduce nitrates to nitrites. According to the physiological and biochemical and culture-morphological signs they have been pre-classified by us as bacteria of the genus *Lactobacillus*.

For further works were selected isolates that were more acid-forming activity. After all, from the literature it is known that rabbits environment of the stomach more acidic than most animals and humans (Kalugin, 1980).

One of the main requirements for the probiotic strains is their antagonistic activity to pathogenic and opportunistic pathogenic microorganisms. We found that all tested strains exhibit antagonistic activity to pathogenic and opportunistic pathogenic microorganisms. Intensity antagonistic activity depended on the test culture and the natural features of a test strain. The most antagonistic activity to pathogenic and opportunistic pathogenic microorganisms exhibit strains: *L. lactis* 4/1, *L. helveticus* 13/2, *L. plantarum* 17/2, *L. acidophilus* 49/1.

One of the main conditions for effective use of probiotics is the attachment of probiotic microorganisms to the epithelial cells of the gastrointestinal tract of macroorganism. We have established that the highest rate of adhesion exhibit strains: *L. casei* 5/4, *L. helveticus* 13/2, *L. plantarum* 16/3, *L. plantarum* 17/3, *L. acidophilus* 31/2.

In experiments *in vivo* on white laboratory mice, we have demonstrated a beneficial effect of using strain *L. helveticus* 13/2 with therapeutic and prophylactic purposes with respect to *Salmonella* infections. It was found that the use of strain *L. helveticus* 13/2, in order to prevent *Salmonella* infection, allowed to keep 100% of the test animals in the group during the infection of *Salmonella typhimurium* № 89 and 90% - are infected with *Salmonella enteritidis* Ch1 var. *Issatschenko*. And the use of strain *L. helveticus* 13/2 for the treatment of salmonellosis in white laboratory mice, allowed keeping 77% and 67% of the test animals infected with *Salmonella typhimurium* № 89 and *Salmonella enteritidis* Ch1 var. *Issatschenko* respectively.

Pozhylov I., Stakhurska O., Shybanov S.

MONITORING OF MOUNTAIN ASH PLANTS FOR THE *EMARAVIRUS* INFECTION
IN THE BIOCOENOSSES OF UKRAINE

*Taras Shevchenko National University of Kyiv
64/13 Volodymyrska Str, Kyiv, 01601, Ukraine
e-mail: illya_pozhilov@ua.fm*

Plant diseases caused by the members of *Emaravirus* genus, such as Pigeonpea sterility mosaic disease (SMD) and Rose rosette disease (RRD) are known since the first half of the twentieth century [Laney et al., 2011]. They cause significant crop losses [Kannaiyan et al., 1984] and, consequently, economic damages in many countries, especially Great Britain, India, USA and Turkey. The biological characteristics, the structure of the genome and the virion, as well as transmission mechanisms need to be studied in further detail to prevent diseases. The most common *Emaravirus* in Europe is *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARaV) [Mielke-Ehret, Mühlbach, 2012], it has been actively studied in recent decade. Mountain ash plants are widely used for landscape design and food industry. Moreover, it is an important pioneer plant in the reforestation projects, especially in polluted or erosion-endangered areas. Considering the fact that *Emaravirus* has segmented ssRNA (-) genome, which is rare, as the vast majority of plant viruses have positive single-stranded RNA genomes, studying it provides insights into mechanisms and processes related to fundamental science. The purpose of our study was to monitor the presence of *Emaravirus* infection in mountain ash of Ukrainian biocoenoses, including research and comparison of sequences of the genomes' fragments of isolates sampled in Ukraine with sequences from NCBI databases to establish their origin.

In the first stage of our research, leaves of mountain ash (*Sorbus aucuparia*) from Kyiv region with virus-like symptoms were sampled. The symptoms of the disease caused by EMARaV are ring spots on the leaves. The samples were homogenized and the juice was purified. Thereafter electron microscopy of the samples of juice was performed, however no virus-like particles were observed.

The next step was the extraction of total RNA from the samples for further Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) using primers for S segment (RNA3) NC30F (5'- tca aca act ctt tta agc aca tca- 3') and NC1190R (5'- tcg act atg ctg gtc ttg ga -3') to EMARaV [Kallinen et al., 2009]. Expected length of amplicons was approximately 1,000 base pairs, but the obtained product was about 300 base pairs. The amplicons were sequenced and analyzed using BLAST. The results of the phylogenetic analysis showed that it corresponds to the plant genome. The amplification of the region of a plant genome may have occur due to the non-specific interactions with primers.

Hence, the further step of our research is to amplify RNA from samples with a pair of new overlapping p4-specific primer sets (p4f: atg gag tcc aac aag atg aag/p4-375r: aca tat tct tct cca taa ata agg; p4-245f: cta ttg gtg aat cca gga tgt t/p4r: tca ttc cat ttg gtc tga tga t) [Roßbach, 2015].

Shybanov S., Stakhurska O., Pozhylov I.

IDENTIFICATION OF HONEY BEE VIRUSES ON THE TERRITORY OF UKRAINE

*Taras Shevchenko National University of Kyiv
ESC «Institute of Biology and Medicine»
64/13, Volodymyrska Street, Kyiv, 01601, Ukraine
e-mail: stahis@ukr.net*

For the last 15 years, dramatic losses of bee colonies were recorded in different regions all around the world, and viruses are one of the major players in these losses. Honey bees play an

important role in pollination and production of honey, wax and pollen. No research has been done so far in Ukraine considering the identification of viruses that attack honey bees (*Apis mellifera*), although a large number of bee colonies die. This leads to decreasing in amount of honey, cropping yields and to the inability of bee products certification. In recent years, Ukrainian beekeepers reported several cases of observation of virus like disorders; however, the causative agent has not been identified. The purpose of our work was to investigate and identify viruses of honey bees on the territory of Ukraine for further comparison with foreign isolates and development of methods to fight these pathogens.

The first step included the monitoring of bee colonies for viral symptoms with subsequent sampling and processing. The samples were obtained from two regions: Kyiv and Cherkasy. Additional samples of *Varroa destructor* mites were collected, as this species serves as vector for *Dicistroviridae*, *Iflaviridae*. Seven pairs of oligonucleotide primers were selected in accordance with data from literature. The primers were chosen to target the conservative genome region of seven viruses (*Acute Bee Paralysis Virus* (ABPV), *Kashmir Bee Virus* (KBV), *Israeli Acute Paralysis Virus* (IAPV), *Black Queen Cell Virus* (BQCV), *Deformed Wing Virus* (DWV), *Sacbrood Bee Virus* (SBV), *Chronic Paralysis Bee Virus* (CBPV)). The samples were used for total RNA extraction with a RNA purification kit. Viral RNA was reverse-transcribed into cDNA by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) and then amplified.

Detailed studying of the bee samples revealed following morphological changes: deformed wings, saccular brood, blackened pistil, changing of the body color. According to the results of RT-PCR, we saw the presence of SBV and BQCV in mites, and ABPV, KBV and IAPV in bees. Hence, we concluded that the following viruses circulate on the territory of Ukraine: *Acute Bee Paralysis Virus* (ABPV), *Kashmir Bee Virus* (KBV), *Israeli Acute Paralysis Virus* (IAPV), *Black Queen Cell Virus* (BQCV), *Sacbrood Bee Virus* (SBV). The next step of our research will include sequencing of the samples for further comparison with foreign isolates and determination of phylogenetic relationships of Ukrainian isolates.

Siromolot A.^{1,2}, Kolibo D.^{1,2}

DIVERSITY OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS ANTIGENS RECOGNITION BY MOUSE SERUM IMMUNOGLOBULINS TO PATHOGEN COMPONENTS

¹ESC Institute of Biology and Medicine

Taras Shevchenko National University of Kyiv

2, Academician Glushkov avenue, Kyiv, 03127, Ukraine

²Palladin Institute of Biochemistry of the NAS of Ukraine

9, Leontovicha str., Kyiv, 01601, Ukraine

e-mail: saa0205@ukr.net

Tuberculosis (TB) is the widespread infectious disease of human being and animals. The ineffectiveness of current methods to control the epidemic situation of TB related not only with absence of effective diagnostics, but also associated with lack of understanding of the molecular mechanisms of pathogenesis of mycobacterial infection. Urgent need is to improve existing methods of TB screening, due to tuberculin skin test has low accuracy. Serodiagnosis by ELISA has been widely used in the diagnosis of different infectious disease, including TB. The major problem for this method is choice of the optimal and high immunogenic substance for determination of antibodies against the pathogen. *Mycobacterium tuberculosis* antigens MPT63 and MPT83 are still with unknown functions. These proteins were identified as major seroreactive antigens in bovine and human TB.

The goal of our study was characterized serum immunoglobulin G (IgG) antibody responses during experimental immunization of lab mice by purified recombinant proteins of *M.*

tuberculosis MPT63, MPT83, that are also produced by *M. bovis*, proteins equimolar composite and artificial fusion protein MPT83-MPT63. Gene encoding above mentioned proteins were expressed in *Escherichia coli* as COOH-terminally polyhistidine-tagged (6xHis tag) fusion proteins as previously described [Siromolot et al., 2016]. Primary and booster injections were intraperitoneal as emulsions in CFA (1st) or IFA (2nd, 3rd) administered in dose 1,52 nmol per animal (n=8-10 for each group) at intervals of 2 weeks. The level of specific antibodies to mycobacterial antigens in the sera of immunized mice was determined by ELISA after 7th day since last immunization.

This study demonstrates that the humoral immune response to MPT63, MPT83, MPT83-MPT63 fusion protein and equimolar set of MPT63 and MPT83 is highly distinguish. For each antigen, serum antibody levels were evaluated by using a cutoff value based on optical density index (ODI), a ratio between OD obtained for a test serum samples collected postimmunization and OD obtained for a serum samples collected from the same animal at an initial, preimmunization time point [Lyashchenko et al., 1998].

Optimal serum dilution was chosen 1:16 000. Lower antibody titers was found against MPT63 (ODI $\geq 15,6$), high – against MPT83-MPT63 fusion (ODI $\geq 66,1$). Anti-MPT83 and anti-(MPT63+MPT83 mixture) sera demonstrate ODI $\geq 55,4$. Both MPT83 and MPT63 antigens not recognized with anti-MPT63 (OD $0,056 \pm 0,02$) and anti-MPT83 (OD $0,027 \pm 0,014$) sera respectively. Moreover, we showed a crucial role of MPT83 for the chimeric protein MPT83-MPT63 and heterogeneous set of proteins immune response: anti-MPT83-MPT63 fusion (OD $>4,0$) and anti-(MPT63+MPT83) (OD $3,123 \pm 0,049$) sera characterizes by a high level of IgG to MPT83 antigen than to MPT63 (OD $2,536 \pm 0,05$ and $0,487 \pm 0,011$ for anti-MPT83-MPT63 fusion and anti-(MPT63+MPT83) sera respectively).

Therefore, we were chosen MPT83-MPT63 fusion as the best candidate on the role of antigenic substance for the serological diagnosis of TB. It has been proven a special role of MPT83 for immunogenicity of chimeric protein and cocktail of individual antigens under conditions of immunization of laboratory animals.

Ternavska O., Semkiv M., Yavorska H.

EXPRESSION OF MODIFIED FORM OF TRANSPORTER *FPS1* FOR ENHANCEMENT OF GLYCEROL EXPORT FROM *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* CELLS

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskogo str., Lviv, 79005, Ukraine
e-mail: orysya.ivaniv@ukr.net*

Glycerol (1,2,3-propantriol) is used in cosmetics, paints, automotive, food, tobacco, pharmaceutical, paper, leather and textile industries. Glycerol is also considered as a raw material for the production of compounds such as 1,3-propanediol, dihydroxyacetone, dihydroxyacetone phosphate and others. Now it is mostly obtained as a by-product from the production of biodiesel and soap or chemical synthesis of propylene or allyl alcohol. However, the level of chemical synthesis of glycerol has decreased in recent years due to environmental problems. Glycerol, which is produced as a by-product in the production of biodiesel or soap, contains a lot of impurities that prevent it from further use. So important achievement is the development of strains capable of efficient conversion of cheap renewable raw materials, for example glucose, in glycerol. Facultative anaerobic yeast *Saccharomyces cerevisiae* can be a good platform for development of recombinant strains overproducing glycerol under low-aeration conditions. *S. cerevisiae* channel protein Fps1 is an aquaglyceroporin that mediates controlled glycerol export during osmoregulation. Fps1 is a member of the major intrinsic protein family of channel proteins most closely related to the bacterial glycerol facilitators. The protein is localized in the plasma membrane. The physiological role of Fps1p in *S. cerevisiae* appears to be glycerol export rather than uptake.

It is known that a modified form of the protein Fps1p with deleted 76-230 amino acid

residues is unable to retain the synthesized glycerol inside yeast cells under hyperosmotic stress. The aim of our work was to construct *S. cerevisiae* strains with overexpression of modified *FPSI* gene that encodes such modified protein, in order to intensify glycerol export from the cells. As a hosts for modified *FPSI* gene expression two *S. cerevisiae* strains were used: the wild-type strain and previously constructed glycerol-producing strain with reduced activity of triosephosphate isomerase and increased activities of glycerol-3-phosphate dehydrogenase and glycerol-3-phosphatephosphatase. These strains were transformed using expression vector pFPS1m. Obtained on the base of WT strain BY4742 recombinant strain BY/fps1m produced 7.5 g/L of glycerol during alcoholic fermentation, whereas initial strain synthesized 2.2 g/L of glycerol. Recombinant strain BY/tpi25/gpd1gpp2f/fps1m with decrease in triosephosphate isomerase activity, overexpression of hybrid *GPD1-GPP2* ORF (encoding artificial fusion of glycerol-3-phosphate dehydrogenase and glycerol-3-phosphatephosphatase enzymes) and overexpression of modified form of *FPSI* gene produced 19.3 g/L of glycerol during alcoholic fermentation revealing 9-fold increase in glycerol production relative to that of WT strain.

Tkachenko H.¹, Buyun L.², Osadowski Z.¹, Honcharenko V.⁴, Prokopiv A.^{3,4}

**ANTI-CANDIDAL EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACTS OBTAINED FROM THE
LEAVES OF VARIOUS *FICUS* SPP. (MORACEAE)**

¹*Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk, Poland
Arciszewski Str. 22B, 76-200 Slupsk, Poland*

e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl, biology.apsl@gmail.com

²*M.M. Gryshko National Botanical Garden*

National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine

e-mail: buyun@nbg.kiev.ua

³*Botanical Garden of Ivan Franko Lviv National University, Lviv, Ukraine*

⁴Ivan Franko Lviv National University, Lviv, Ukraine

Candida albicans is a commensal coloniser of most people [da Silva Dantas et al., 2016]. This species asymptotically colonizes many areas of the body, particularly the gastrointestinal and genitourinary tracts of healthy individuals [Nobile and Johnson, 2015]. Synthetic fungicides are widely used for the control of pathogenic fungi, however, their use is not so beneficial owing to high cost, emergence of resistant pathogens, residual problem and deleterious effect on non-target organisms including humans. The available antifungal therapeutic agents is limited, and the development of new drugs has been slow [Chin et al., 2016]. Therefore, the search for alternative drugs with low resistance rates and fewer side effects remains a major challenge. Several important *Ficus* species were chosen to evaluate their antimicrobial efficacy against *Candida albicans* [Saklani and Chandra, 2012, Al Askari et al., 2013, Salem et al., 2013, Safiullah et al., 2016]. With this background, an attempt was made to study the *in vitro* antimicrobial activity of the ethanolic extracts of various species of *Ficus* against *Candida albicans*. The leaves of *F. aspera* G. Forst, *F. barteri* Sprague, *F. benghalensis* L., *F. benjamina* L., *F. benjamina* 'Reginald', *F. binnendijkii* (Miq.) Miq., *F. binnendijkii* 'Amstel Gold', *F. binnendijkii* 'Amstel King', *F. binnendijkii* 'Amstel Gold', *F. carica* L., *F. craterostoma* Mildbr. & Burret, *F. cyathistipula* Warb., *F. deltoidea* Jack, *F. drupacea* Thunb., *F. drupacea* 'Black Velvet', *F. elastica* Roxb., *F. elastica* 'Variegata', *F. elastica* var. *rubra* L.H. Bailey & E.Z. Bailey, *F. erecta* Thunb., *F. erecta* var. *sieboldii* (Miq.) King, *F. formosana* Maxim., *F. hispida* L.f., *F. johannis* subsp. *afghanistanica* (Warb.) Browicz, *F. lingua* Warb. ex De Wild. & T. Durand, *F. luschanthiana* (Miq.) Miq., *F. lyrata* Warb., *F. lyrata* 'Bambino', *F. macrophylla* Desf. ex Pers., *F. microcarpa* L.f., *F. monckii* Hassl., *F. mucoso* Welw. ex Ficalho, *F. mysorensis* B.Heyne ex Roth, *F. mysorensis* 'Black Velvet', *F. natalensis* Hochst. subsp. *natalensis*, *F. natalensis* Hochst. subsp. *leprieurii* (Miq.) C.C. Berg, *F. palmeri* S.Watson, *F. platypoda* (Miq.) A. Cunn. ex Miq., *F. pumila* L., *F. religiosa* L., *F. retusa* L., *F. rubiginosa* Desf. ex Vent., *F. sagittata* J. Koenig ex Vahl, *F. septica* Burm. f., *F. sur* Forssk., *F. sycomorus*

L., *F. tinctoria* subsp. *gibbosa* (Blume) Corner, *F. vasta* Forssk., *F. villosa* Blume, *F. virens* Aiton were collected at M. Gryshko National Botanical Garden (Kyiv, Ukraine) and Botanical Garden of Ivan Franko Lviv National University (Lviv, Ukraine). The whole collections of tropical and subtropical plants both at NBG and Botanical Garden of Ivan Franko Lviv National University (including *Ficus* spp. plants) have the status of a National Heritage Collection of Ukraine.

The crude extracts of *Ficus* spp. leaves were tested for antimicrobial activity using the disc diffusion method (Kirby-Bauer method) [Bauer *et al.*, 1966]. Antibacterial activities were determined by measuring the clear zone of inhibition to the nearest millimetre (mm) $\pm$ S.E.M. The following zone diameter criteria were used to assign susceptibility or resistance of bacteria to the phytochemicals tested: Susceptible (S) ≥ 15 mm, Intermediate (I) = 11–14 mm, and Resistant (R) ≤ 10 mm [Okoth *et al.*, 2013]. Our results showed that ethanolic extracts of *Ficus* species have potent antifungal properties against *Candida albicans*. The most effective 9 plants at least causing a zone of inhibition 15–25.5 mm were *F. tinctoria* subsp. *gibbosa*, *F. benjamina*, *F. septica*, *F. hispida*, *F. palmeri*, *F. sur*, *F. erecta*, *F. cyathistipula*, *F. barteri*. The unique plant that controlled pathogen growth was *F. tinctoria* subsp. *gibbosa*. While *F. mucoso*, *F. macrophylla*, *F. sycomorus*, *F. elastica* 'Variegata', *F. johannis* subsp. *afghanistanica*, *F. craterostoma*, *F. mysorensis* 'Black Velvet', *F. deltoidea*, *F. rubiginosa*, *F. sagittata*, *F. platypoda*, *F. microcarpa*, *F. elastica* var. *rubra*, *F. formosana* have exhibited intermediate activity against *C. albicans* (diameters of inhibition zone ranged from 10 to 15.5 mm). The highest antibacterial potential of *Ficus* could be explained by the amount of flavonoids present. However, the activity showed by ethanolic extracts of *Ficus* species may result from the interactions of different polyphenols. Most studies on the antimicrobial potential of polyphenols have focused on the inhibitory activity of individual components. The inhibitory effect of phenolics could be explained by absorption to cell membranes, interactions with enzymes, substrate and metal ion deprivation [Scalbert, 1991]. Direct interaction between the two compounds may result in changes of the structural conformation thus reducing the inhibitory activity. These results form a good basis for further pharmacological investigations of medicinal effects of *Ficus* species. Further studies should be carried out to extract the fractions of the plants that inhibit bacterial activity. In addition, the potential antimicrobial compounds comprising in the extracts of various *Ficus* species tested should be purified and further examined. Finally, the mechanisms of action of these potential active compounds should also be assessed.

Tkachenko H.¹, Buyun L.², Osadowski Z.¹, Maryniuk M.²

THE ANTIBACTERIAL SCREENING OF CERTAIN SANSEVIERIA SPECIES AGAINST *ESCHERICHIA COLI* STRAIN

¹*Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk, Poland Arciszewski Str. 22B, 76-200 Slupsk, Poland*

e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl, biology.apsl@gmail.com

²*M.M. Gryshko National Botanical Garden*

National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine

e-mail: buyun@nbg.kiev.ua

Escherichia coli is one of the most frequent causes of many common bacterial infections, including cholecystitis, bacteremia, cholangitis, diarrhea, urinary tract infection, and other clinical infections such as neonatal meningitis and pneumonia [Madappa, 2016]. Although most genetic subtypes of *E. coli* can be a harmless resident of the gastrointestinal tract, it also has the pathogenic capacity to cause severe diarrheal and extraintestinal diseases [Croten *et al.*, 2013]. *E. coli* is a Gram-negative, oxidase-negative, rod-shaped bacterium from the family Enterobacteriaceae. It is able to grow both aerobically and anaerobically, preferably at 37°C, and can either be nonmotile or motile, with peritrichous flagella. Pathogenic variants of *E. coli* (pathovars or pathotypes) cause much morbidity and mortality worldwide [Croten *et al.*, 2013]. In addition, the development of bacterial resistance to presently available antibiotics has

necessitated the search for new antimicrobial agents. Another challenging factor for the renewed interest in plant-derived antimicrobial agents in the past 20 years has been the threatening rate of plant species extinction [Lewis and Elvin-Lewis, 1995]. Hence, an attempt has been made to evaluate antibacterial activity of seventeen species of *Sansevieria* genus against *E. coli*. Genus *Sansevieria*, belonging to *Asparagaceae* family [Lu and Morden, 2014], comprises ca. 70 species worldwide, distributed mainly in dry or arid areas of the Old World tropics and subtropics [(Staples and Herbst, 2005), with a distribution range from Africa to South-East Asia and the islands of the Indian Ocean [Alfani et al., 1989]. Africa is the center of diversity for *Sansevieria* [Carlquist and Schneider, 2007]. Representatives of this genus are usually xerophytic perennial rhizomatous plants that occur in dry tropical and subtropical parts of the world [Staples and Herbst, 2005]. So, the present study was conducted to investigate *in vitro* antimicrobial activity of ethanolic extracts of seventeen species of *Sansevieria* genus [*Sansevieria canaliculata* Carriere, *S. trifasciata* Prain, *S. cylindrica* Bojer ex Hook., *S. parva* N.E.Br. (syn. *S. dooneri* N.E.Br.), *S. fischeri* (Baker) Marais, *S. kirkii* Baker, *S. aethiopica* Thunb., *S. metallica* Gerome & Labroy, *S. caulescens* N.E.Br., *S. francisii* Chahin, *S. arborescens* Cornu ex Gerome & Labroy, *S. volkensii* Gurke (syn. *S. intermedia* N.E. Br.), *S. forskaliana* (Schult. & Schult. f.) Hepper & J.R.I. Wood, *S. gracilis* N.E. Br., *S. hyacinthoides* (L.) Druce (syn. *S. grandis* Hook. f.), *S. roxburghiana* Schult. & Schult. f., *S. suffruticosa* N.E. Br.] against *E. coli* strain.

The leaves of *Sansevieria* plants, cultivated under glasshouse conditions, were sampled for antimicrobial potency assessment at M.M. Gryshko National Botanical Garden, National Academy of Science of Ukraine. For this study, a strain of *E. coli* (ATCC 25922) was used. Cultures were grown aerobically for 24 h at 37°C. The cultures were later diluted with sterile solution of 0.9% normal saline to approximate the density of 0.5 McFarland standard. Antimicrobial activity was determined using the agar disk diffusion assay [Bauer et al., 1966]. Culture of *E. coli* was inoculated onto Mueller-Hinton (MH) agar plates. Sterile filter paper discs impregnated with extracts were applied over each of the culture plates. Isolates of bacteria were then incubated at 37°C for 24 h. The plates were then observed for the zone of inhibition produced by the antibacterial activity of various ethanolic extracts obtained from leaves of *Sansevieria* species. Zone inhibition diameters were determined and averaged.

An *in vitro* test for antibacterial activity revealed that extracts from the leaves of *S. kirkii* and *S. arborescens* were particularly active against tested organism (diameters of inhibition zones were 24 and 22.5 mm, respectively). It was followed by the activities of extracts from *S. roxburghiana*, *S. francisii*, *S. forskaliana*, *S. cylindrica*, *S. trifasciata*, *S. canaliculata*, *S. caulescens*, *S. metallica*, *S. aethiopica* leaves (diameters of inhibition zones ranged between 13.5 and 12.0 mm). Finally, the ethanolic extracts of *S. gracilis*, *S. suffruticosa*, *S. fischeri*, and *S. hyacinthoides* showed less antimicrobial activities (diameters of inhibition zones ranged from 8 to 11.5 mm). The results obtained from the present research showed antimicrobial potential of eleven extracts obtained from leaves of *Sansevieria* genus representatives against *E. coli*. So, these plants extracts can be used as antiseptics and antimicrobial agents in medicine as alternative strategies to control infectious diseases associated with *E. coli*. The antibacterial activity in *Sansevieria* genus may be due to presence of alkaloids, saponins, terpenoids, steroids, glycosides, tannins, acidic compounds, fats and oils in their composition. Also flavonoids have several therapeutic effects such as antioxidant and anti-inflammatory [Akindele et al., 2015].

Thus, our findings demonstrate that the ethanolic extracts obtained from leaves of *S. kirkii*, *S. arborescens*, *S. roxburghiana*, *S. francisii*, *S. forskaliana*, *S. cylindrica*, *S. trifasciata*, *S. canaliculata*, *S. caulescens*, *S. metallica*, *S. aethiopica* possess antibacterial potency against *E. coli* strain. Considering the medicinal importance of the tested microorganism these extracts may be used as a natural antiseptics and antimicrobial agents in medicine.

Tymchyshyn O., Kosenko I., Shevchenko T.

BIOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF UKRAINIAN ISOLATES OF ZUCCHINI YELLOW MOSAIC VIRUS

*Taras Shevchenko National University of Kyiv
64/13, Volodymyrska Str., Kyiv, Ukraine, 01601
e-mail: o.v.tymchyshyn@gmail.com*

ZYMV is a member of the genus *Potyvirus*, family *Potyviridae*. Since its discovery in 1973, ZYMV has spread to most cucurbit-growing areas, causing severe mosaic and distortions on leaves and fruits of infected plants [Simmons, 2011]. Infection by ZYMV during the early stages of plant development can cause significant losses in yield. ZYMV is transmitted by certain species of aphids in non-persistent manner, by plant sap containing the virus, and, for some isolates and host species, through infected seeds.

The purpose of current project was to analyze the diversity of ZYMV isolates by the biological and molecular characterization of six isolates sampled from different cucurbits between 2012 and 2016 in various locations of Ukraine.

Symptomatic plant samples were collected during 2012-2016 years in different regions. Detection of viral antigens was performed by DAS-ELISA using commercial test systems (Loewe, Germany). Infected plants shared variable symptoms in field conditions: yellow mosaics, leaf blade deformation, knobs and malformations of fruits. Lab hosts showed necrotic spots on leaves, some of them were symptomless. Moreover, the possibility of seed transmission was tested on *Cucurbita pepo* plants in insect-free greenhouse. Seed transmission of ZYMV was assessed by ELISA and RT-PCR. Only one isolate ZYMV-14P showed seed-borne transmission with transmission rate 2,56%.

Further, nuclear inclusion-coat protein (NIb-CP) genome region of this isolate was sequenced as well as other 5 isolates detected in different locations. RT-PCR was accomplished using specific primers to NIb-CP genome region of ZYMV (expected product size – 600 bp). Then obtained amplicons were purified and sequenced using Applied Biosystems 3730x1 DNA Analyzer with Big Dye terminators, version 3.1 (Applied Biosystems, USA).

To investigate the genetic diversity among Ukrainian isolates and establish molecular relationships with the previously characterized ZYMV isolates from Europe and other parts of the world the phylogenetic analysis was carried out. It was conducted using Neighbor-Joining method in MEGA 6. Bean common mosaic virus was used as outgroup.

Phylogenetic analysis defined all six ZYMV isolates as members of group A. Ukrainian isolates were clustered with isolates from Slovenia, Hungary, Czech Republic, Austria and France within subgroup AI. This group is the most frequent phylogenetic group, which is common for other European countries [Coutts, 2011].

Ukrainian isolates showed high identity level (99-100%) of NIb-CP genome region. Seed-transmitted isolate ZYMV-14P shared no statistically reliable differences in comparison with other five isolates detected in Ukraine.

**Voronkevych M.^{1,2}, Loseva D.^{1,2}, Sagan I.³, Melnykova O.^{1,3}, Sokolova I.²,
Babenko L.¹, Lazarenko L.¹, Spivak M.¹**

ADHESIVENESS OF PROBIOTIC STRAINS OF BIFIDOBACTERIA TO EPITHELIAL CELLS AND ERYTHROCYTES *IN VITRO*

*¹D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NAS of Ukraine
154 Akad. Zabolotny str., Kyiv, 03680, Ukraine*

²Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, 72 Gagarina av., Dnipro, 49010, Ukraine

*³Institute of Biology and Medicine of Taras Shevchenko Kyiv National University
2 Akad. Glushkova av., Kyiv, 03680, Ukraine
e-mail: voronkevichmasha@yandex.ua*

To study the prospects of probiotic strains of bifidobacteria it is recommended to examine their adhesive properties – the ability to attach on epithelial cells *in vitro*. This indicator is one

of the most important criteria for the selection of potentially probiotic strains for further use [Zarate, 2006]. There are different methods of probiotic strains adhesive properties studying, the most common research technique is studying adhesiveness to epithelial cells, because high adhesiveness contributes to maintenance of resistance of the biotope, the entry into a competitive relationship with pathogenic and opportunistic microorganisms [Kornienko, 2007]. This method is rather complicated in execution and involves pre-cultivation of cells. A more simple method of investigation of adhesiveness of the strains associated with the use of red blood cells, because pre-cultivation of erythrocytes is not required.

So, the aim of this work was to compare two methods of research of adhesion properties of *Bifidobacterium animalis* VKL and *B. animalis* VKB potentially probiotic strains *in vitro* using epithelial cells and erythrocytes. Strains were allocated from the associated culture during laboratory studies of the fermented biological material from the intestines of humans. The study was performed using bacteria lyophilized in Cuddon Freeze Dryer FD1500 (New Zealand). Before each experiment the viability of lyophilized strains were tested by monitoring their growth on the Bifidum-agar media at 37 °C for 24-48 hours in anaerobic conditions.

The adhesive properties of the strains were studied according to the V.I. Brilis et al [1986] method using erythrocytes from 0(I) Rh+ group of human blood and human buccal epithelial cells. The following indicators were determined: the average adhesion index (AAI) – the average number of microbial cells that attached to the surface of one erythrocyte (epitheliocyte); the participation rate of erythrocytes (epitheliocytes) (EPR) – the percentage of cells containing microorganisms on their surface; the index of adhesiveness of microorganisms (IAM) – the average number of microbial cells that attached to the surface of one erythrocyte (epitheliocyte). IAM was calculated according to the formula: $IAM = (AAI * 100) / EPR$. Microorganisms were considered as non-adhesive when $IAM \leq 1.75$ standard units, low adhesive – when IAM from a 1.76 to 2.5 standard units, medium adhesive – when IAM from of 2.51 to 4.0 standard units, high adhesive – when $IAM > 4.00$ standard units.

The results of these studies on erythrocytes and epithelial cells have shown that strains had no significant differences in AAI index (*B. animalis* VKL – 3.72 ± 0.24 and 4.44 ± 0.33 respectively; *B. animalis* VKB – 4.02 ± 0.53 and 4.82 ± 0.42 respectively) and also in EPR index. By IAM index strains had some differences in indicators obtained using different techniques on erythrocytes and epitheliocytes, but they were counted as high adhesive by both methods (*B. animalis* VKL – 4.23 ± 0.22 and 4.72 ± 0.54 respectively; *B. animalis* VKB – 4.83 ± 0.31 and 5.14 ± 0.48 respectively).

By the results of our research we can make a conclusion that the use of both methods of determination of adhesive properties of potentially probiotic strains give similar results and therefore can be used in the primary researches of microorganisms *in vitro* in the search of bacteria for the subsequent probiotic preparations creation on their basis. It is known that red blood cells contain substances on their surface that are identical to epithelial cells, therefore the method of determining strains adhesive properties on erythrocytes can probably be used by researchers if it is impossible to work with epithelial cells.

МОЛЕКУЛЯРНА ТА КЛІТИННА БІОЛОГІЯ MOLECULAR AND CELL BIOLOGY

Андрєєва Ю.^{1,2}, Лизак О.², Дмитрук К.², Сибірна Н.¹, Сибірний А.²

РОЗРОБКА CRISPR-CAS9 СИСТЕМИ ДЛЯ ДРІЖДЖІВ *CANDIDA FAMATA*
ТА *HANSENULA POLYMORPHA*.

¹Львівський національний університет імені Івана Франка

бул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

²Інститут біології клітини НАН України

бул. Драгоманова, 14/16, Львів 79005, Україна

e-mail: ylko400.bandit@gmail.com

Andreieva Y.^{1,2}, Lyzak O.², Dmytruk K.², Sibirna N.¹, Sibirny A.² DEVELOPMENT OF CRISPR-CAS9 SYSTEM FOR YEAST *CANDIDA FAMATA* AND *HANSENULA POLYMORPHA*. Generation of mutations in the *ADE2* gene was proposed to test the functional activity of the CRISPR-cas9 system in yeast *Candida famata* and *Hansenula polymorpha*. Truncation of this gene leads to accumulation of red pigment thus it provides easy detection of *ade2* mutant phenotype. It was shown that this system demonstrate activity in yeasts *C. famata* and *H. polymorpha*. Although frequency of mutation is generally low, that can be increased by activation of *CAS9* expression.

CRISPR-Cas9 система – це є одна з систем захисту еубактерій та архей від чужорідної ДНК, наприклад плазмід та вірусів. Ця система була адаптована для лабораторного застосування, як інструмент для редагування генома всіх груп організмів: бактерій, рослин, тварин або клітинних ліній людини і грибів. Нуклеаза cas9, використовуючи направляючу РНК (gRNA) розпізнає та специфічно розщеплює ділянку ДНК, що комплементарна до 20 пар основ 5'-кінця gRNA, результатом чого є поява двохланцюгового розриву, який в залежності від способу репарації спричиняє появу мутацій чи модифікацій.

Дане дослідження орієнтоване на адаптацію цього методу для модифікації геному у дріжджів *C. famata* та *H. polymorpha*, які мають важливе біотехнологічне значення. Для оцінки ефективності системи в цих видів дріжджів, як мішень було використано ген *ADE2*, пошкодження якого призводить до накопичення червоного пігменту, що дозволяє легко детектувати *ade2* мутанти. Було встановлено, що CRISPR-Cas9 система, яка ефективно працює у *Candida albicans*, виявляє низьку ефективність у *C. famata* – лише 5% трансформантів виявляли мутантний фенотип. Однією з причин такого результату є неефективна експресія генів, що кодують компоненти системи. У *H. polymorpha*, ендогенний промотор гена *GAP1*, що кодує гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназу, було клоновано замість *ENO1* промотора *C. albicans* для забезпечення ефективної експресії Cas9 нуклеази. Підвищення експресії гена *CAS9* приводило до зростання частоти появи мутації в гені *ADE2*. Серед відібраних трансформантів 30-70% колоній накопичували червоний пігмент.

Біла І., Бродяк І., Сибірна Н.

ВПЛИВ WGA-СТИМУЛОВАЛЬНИХ СИГНАЛІВ НА ПРОЦЕС
ПОЛІМЕРИЗАЦІЇ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТУ В ЛЕЙКОЦИТАХ
ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ
НА ФОНІ ВВЕДЕННЯ АГМАТИНУ

Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів

бул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

e-mail: ivanka.payk@gmail.com

Bila I., Brodyak I., Sybirna N. THE INFLUENCE OF WGA-STIMULATORY SIGNALS ON THE PROCESS OF ACTIN CYTOSKELETON POLYMERIZATION OF LEUKOCYTES

IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS UNDER THE TREATMENT WITH AGMATINE. The purpose of our work was to study the effects of agmatine and the influence of WGA-stimulatory signals on the process of polymerization of actin cytoskeleton in rats' peripheral blood leukocytes under experimental diabetes mellitus. Our data suggest that this polyamine affects the dynamics of actin redistribution in leukocytes of streptozotocin-induced diabetic rats. Agmatine promotes recovery and maintenance the functional state of white blood cell in response to activation signals via altered cytoskeleton formation.

Експериментальні дослідження лейкоцитів за умов діабету демонструють значні порушення морфофункціонального стану цих клітин крові. У свою чергу, морфофункціональний стан лейкоцитів узалежнений від комплексної взаємодії між білками мембрани, цитоскелетом і мережею внутрішньоклітинного сигналювання. Динамічне формування та реорганізація актинового цитоскелету відбувається у разі хемотаксису, зміни форми, діapedезу, дегрануляції лейкоцитів, а також при здійсненні ними фагоцитозу. Швидке перетворення мономерного актину (G-актину) в F-актин (полімеризація) або F-актину в G-актин (деполімеризація) є відповіддю лейкоцитів на наявність і зміну концентрації розчинних факторів хемотаксису та клітинних активаторів, які обумовлюють реорганізацію цитоскелету. Вивчення механізмів полімеризації-деполімеризації актину має важливе значення для розуміння міграційної здатності і функціональної активності лейкоцитів крові у разі діабету.

Метою нашої роботи було дослідити вплив агматину на перерозподіл фракцій актину, які представлені щільно асоційованими з мембраною філаментами цитоскелету, короткими актиновими філаментами цитоскелету і мономерами актину, у лейкоцитах тварин з експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД) на фоні введення агматину. Оскільки на поверхні лейкоцитів наявні адгезивні молекули і рецептори, які є глікокон'югатами із високим ступенем сіалювання, що через мембранні структури і сигнальні білки взаємодіють із білками цитоскелету, то динаміку полімеризації-деполімеризації актинових філаментів ми оцінювали після тридцяти секунд, однієї та трьох хвилин преінкубації лейкоцитів крові тварин із лектином зародків пшениці (WGA).

У лейкоцитах тварин з ЕЦД на фоні введення агматину динаміка формування відповіді вже на тридцять секунд стимульовального впливу лектину WGA, характеризувалася інтенсифікуванням полімеризації актину у фракції філаментів цитоскелету, внаслідок деполімеризації актину коротких філаментів і використання мономерів актину. На першу хвилину після дії лектину WGA, рівень F-актину у філаментах цитоскелету лейкоцитів знижувався, що корелювало зі зростанням вмісту G-актину та F-актину у фракції коротких актинових філаментів. Активування лейкоцитів, виділених із периферичної крові тварин з ЕЦД на фоні введення агматину, лектином WGA впродовж трьох хвилин обумовлювало такий перерозподіл вмісту актину в досліджуваних фракціях, як у неактивованому стані. Отже, динаміка перерозподілу вмісту актину у лейкоцитах тварин з ЕЦД на фоні введення агматину вказує на те, що даний поліамін сприяє відновленню і підтриманню функціональної відповіді лейкоцитів на активаційні сигнали. За вказаних умов афінність зв'язування сіалоглікокон'югатів із комплементарними лігандами і трансдукція лектиніндукованого сигналу, який обумовлює реорганізацію актинового цитоскелету, майже досягають показників реорганізації актину в активованих лейкоцитах контрольної групи тварин.

Гнилюх Н.^{1,2}, Стасик О.^{1,2}

КОНСТРУЮВАННЯ ШТАМІВ *PICHA PASTORIS* ДЛЯ ЗМЕНШЕННЯ СТРЕСУ ПІДЧАС ПРОДУКЦІЇ ГЕТЕРОЛОГІЧНИХ БІЛКІВ

¹Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського 4, Львів 79005, Україна

²Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова 14/16, Львів 79005, Україна

yemail:natalyahnuikukh@gmail.com

Gnyliukh N., Stasyk O. ENGINEERING OF *PICHA PASTORIS* STRAINS FOR STRESS DECREASING DURING RECOMBINANT PROTEIN PRODUCTION. Currently,

the most used system for heterologous protein production is methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. Autophagy can induce change of the metabolic fluxes to prepare yeast cells for starvation conditions. In our investigation, we constructed several types of plasmids, which contained folding regulatory genes and inducers of autophagy. We showed high level of heterologous protein production which caused by overexpression of selected recombinant genes of *P. pastoris*.

Pichia pastoris є дріжджовою системою, яка часто використовується для виробництва гетерологічних білків. Ця система синтезу рекомбінантних білків продемонструвала високу ефективність продукції поєднань медичного значення у промислових масштабах. *P. pastoris* має швидкий ріст, ефективну секрецію, наявність сильних індукованих промоторів і здатність рости за високої густини клітин.

Оскільки дріжджі *P. pastoris* можуть утилізувати різні джерела Карбону і не потребують дороговартісних засобів промислової культивування, ці мікроорганізми є ефективними продуцентами цільової біотехнологічної продукції у великих масштабах. Іншою перевагою цієї системи є наявність механізмів посттрансляційних модифікацій білків, притаманних еукаріотичним клітинам і людським, зокрема. *P. pastoris* є одним з 30-ти видів дріжджів, які об'єднуються у два роди (*Pichia* і *Candida*), здатні метаболізувати метанол, як джерело Карбону та енергії. Останні результати аналізів транскриптоміки і метаболоміки зразків «Fed-batch» культивування *P. pastoris* показали, що індукція автофагії може призвести до перенаправлення метаболічних потоків на шлях підготовки клітин до умов голодування та регуляції важливих процесів для отримання рекомбінантних білків, наприклад, секреції або біогенезу рибосом.

Метою дослідження було подолати такі обмеження шляхом клітинної інженерії – надекспресією генів *P. pastoris*, задіяних у регуляції фолдингу білків і автофагійної деградації. За допомогою методу ELISA було проаналізовано рівень продукції гетерологічних білків вибірки штамів-продуцентів чужорідного протеїну Fab), які містили плазмиди з різними генами-регуляторами обміну речовин. Методом кількісної полімеразної ланцюгової реакції було підтверджено високий рівень експресії рекомбінантних генів у клітинах *P. pastoris*. Проте, це не завжди призводило до підвищення продукції та збільшення титру фрагментів антитіл Fab, що було підтверджено методом Вестерн-блот аналізу. «Fab-batch» культивування дало змогу виявити два клони із значним збільшенням продукції білка-мішені. Згідно результати білкового електрофорезу починаючи з 10-ї год культивування спостерігалось поступове збільшення титру білка-мішені.

Іванська С.^{1,2}, Стасюк Н.², Гайда Г.², Чайка Я.¹

“ЗЕЛЕНИЙ” СИНТЕЗ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ НЕКОНВЕНЦІЙНИМИ ДРІЖДЖАМИ *HANSENULA POLYMORPHA*

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

²Інститут біології клітини Національної академії наук України
вул. Драгоманова, 14/16, Львів, 79005, Україна
e-mail: sofjabass147@gmail.com

Ivanska S., Stasyuk N., Gayda G., Chayka Y “ЗЕЛЕНИЙ” СИНТЕЗ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ НЕКОНВЕНЦІЙНИМИ ДРІЖДЖАМИ *HANSENULA POLYMORPHA*. Recent advances in nanotechnology have enabled the exploration of nanomaterials for diverse applications. Metallic nanoparticles (NPs) are important object of nanotechnology due to their potential utilization in industry and medicine. Metallic NPs can be synthesized by different methods, such as using spark discharging, electrochemical and chemical reduction, and cryochemical synthesis.

Наночастинки металів (НЧ) є важливими об'єктами нанотехнологій завдяки перспективам їхнього застосування у промисловості й медицині. Підвищений інтерес дослідників

до нанооб'єктів викликаний їхніми незвичайними фізичними і хімічними властивостями, особливостями біологічної дії, що відрізняються від властивостей цієї ж речовини в формі суцільних фаз або макроскопічних дисперсій. На сьогодні у світі, зокрема в Україні, проводяться інтенсивні дослідження з отримання НЧ металів, впровадження їх у практичну діяльність, визначення потенційних ризиків та безпечності для здоров'я людини та довкілля.

Металеві НЧ можуть бути отримані різними фізико-хімічними методами, зокрема опроміненням матеріалу ультрафіолетом, літографією, фотохімічним відновленням. Однак ці методи дорогі, в них часто використовуються токсичні реагенти. У зв'язку з цим особлива увага приділяється альтернативним, екологічно безпечним і дешевим методам. До їхнього числа належить, зокрема, «зелений» синтез. Багато живих організмів (рослини, бактерії, гриби, дріжджі), а також біохімічні полімери, такі як полісахариди, ДНК, РНК, білки і поліпептиди можуть використовуватись для отримання наноструктурованих кристалів мінералів і металевих НЧ з властивостями, подібними до хімічно синтезованих матеріалів. Детальний механізм синтезу НЧ за використання біологічних агентів досі не з'ясовано, але існує припущення, що різні біомолекули відповідають за синтез НЧ.

Метою роботи було дослідити здатність дріжджів *Hansenula polymorpha* до синтезу різних видів металевих НЧ. Були досліджені процеси редукції неорганічних солей і формування позаклітинних стабільних біоНЧ не лише дріжджовою культурою (*in vivo*), але й позаклітинною рідиною після видалення культури клітин (*in vitro*). Характеристику кінцевого продукту було здійснено із застосуванням методів трансмісійної електронної мікроскопії, скануючої електронної мікроскопії, флуоресцентної мікроскопії, УФ-видимої адсорбційної спектроскопії. Було вивчено вплив різних параметрів, зокрема, часу та концентрації неорганічної солі на формування Ag, Au, Cd, Pt, Pd, Au-НЧ. Наші результати можуть бути цікавими для фундаментальної та прикладної біологічної науки, особливо для досліджень молекулярних механізмів захисту клітини від стресу, спричиненого токсичними сполуками, а також для розробки нових ефективних і економічно вигідних методів одержання нових наноматеріалів.

Кармаш О.^{1,2}, Чайка Я.¹

ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ФРАГМЕНТІВ ХІТОЗАНУ, ОДЕРЖАНИХ ШЛЯХОМ ОБМЕЖЕНОГО КИСЛОТНОГО ГІДРОЛІЗУ

¹Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна

²Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, Львів, Україна

e-mail: sashakarmash@gmail.com

Karmash O., Chayka Y. PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF CHITOSAN FRAGMENTS OBTAINED BY LIMITED ACID HYDROLYSIS. Chitosan is natural polysaccharide possessing immunomodulation properties. It stimulates both cell-mediated and humoral immune responses. The use of high molecular weight chitosan for parenteral application is problematic due to high viscosity of solutions and low solubility at neutral pH. The method of chitosan fragments isolation with lower MW by limited acid hydrolysis was developed. Obtained chitosan fragments permit to prepare stable and low viscosity injection solutions.

Хітозан є природним полісахаридом з багатогранними аспектами застосування у біології та медицині. Зокрема, йому притаманні імуномодулюючі властивості, якф полягають у стимуляції клітинної та гуморальної імунної відповіді [Nishimura, 1986; Marcinkiewicz, 1991]. Як імуноад'ювант він підвищує титр антиген-специфічних антитіл у

п'ять разів і у шість разів стимулює проліферацію антиген-специфічних CD4⁺ спленоцитів [Zaharoff, 2007].

Застосування високомолекулярного хітозану для приготування розчинів для парентерального введення є проблематичним по причині високої в'язкості цих розчинів та незначної розчинності хітозану при рН 7. Тому як ад'ювант доцільно використовувати фрагментований хітозан із молекулярною масою 60-150 кДа.

Мета нашої роботи полягала у розробці методу обмеженого розщеплення хітозану шляхом кислотного гідролізу та одержання препаратів хітозану із покращеною розчинністю у нейтральному середовищі та меншою в'язкістю розчинів.

У роботі використовували хітозан із панцирів крабів (Мм~500 кДа). Обмежений кислотний гідроліз проводили у двох варіантах: 1) 1 % розчин хітозану у 5 %, 10 % та 20 % оцтовій кислоті інкубований протягом 30, 60, 90 хв. при температурі 70, 90 °С. 2) 100 мг порошку хітозану, ресуспендований у 2 мл ацетону з додаванням 0,1 або 0,2 мл оцтової кислоти. У випадку 2 варіанту суміш залишали у чашці до випаровування ацетону, залишок порошку запаювали в ампули та нагрівали до 90 °С протягом 30 та 60 хв. Встановлено, що для одержання препарату хітозану з бажаними властивостями оптимальним є проведення гідролізу у розчині 20% оцтової кислоти при 90 °С протягом 60 хв.

Середня молекулярна маса препарату визначена віскозиметрично становила 80-100 кДа. Склад фракцій хітозану після гідролізу визначали методом електрофорезу у ПААГ зі ступеневим градієнтом концентрації акриламід (2,5, 5, 10, 15, 20 %). Основна маса фрагментів хітозану у гідролізаті була представлена фракцією із молекулярною масою 110 кДа.

Розроблено метод одержання фрагментів хітозану із середньою молекулярною масою 80-100 кДа шляхом обмеженого кислотного гідролізу. Препарат дозволяє отримати ін'єкційні розчини з невисокою в'язкістю, стабільні при рН 6,7-7,0. Отримані фрагменти хітозану будуть досліджені на здатність зв'язувати білки сироватки крові та стимулювати імунну відповідь у лабораторних тварин.

Кишмен Х.¹, Климишин Н.¹, Стасик О. В.², Стасик О. Г.^{1,2}

ОСОБЛИВОСТІ УТИЛІЗАЦІЇ АЛЬТЕРНАТИВНИХ ДО ГЛЮКОЗИ ДЖЕРЕЛ
КАРБОНУ В *gcr1*-МУТАНТІВ ДРІЖДЖІВ *HANSENULA POLYMORPHA*

¹Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005, Україна

²Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів 79005, Україна

e-mail: ffgjvcfgv@gmail.com

Kytsmen Kh., Klymyshyn N., Stasyk O. V., Stasyk O. G. UTILISATION FEATURE OF ALTERNATIVE TO GLUCOSE CARBON SOURCES IN *gcr1*-MUTANTS OF YEAST *HANSENULA POLYMORPHA*. The aim of our research was to study the role of high-affinity glucose sensor Gcr1 of methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha* in the regulation of metabolism of alternative to glucose carbon sources – citric acid, ethanol, and methanol. We found that entering *Apex3* mutation into the genome of *H. polymorpha* strain *Δgcr1* impaired the ability of cells to utilize citrate, as a single carbon source, compared to the original strain *Δgcr1*. Glucose, ethanol and methanol were favorite substrates for *Δgcr1* and *Δgcr1Δapex3* strains during growth on the medium with combined carbon sources, such as glucose and citrate, methanol (or ethanol) and citrate. However, these strains utilized glucose and methanol (or ethanol) simultaneously under growing on the medium with both these Carbon substrates. Impaired glucose repression allows metabolize glycolytic and gluconeogenic compounds collaterally.

Серед приблизно 600 видів дріжджів, відомих на сьогодні, до яких також належить *H. polymorpha*, лише близько 50 видів здатні засвоювати метанол. Усі метилотрофні дріж-

джі є факультативним метилотрофами, оскільки їхній ріст можуть забезпечувати й інші сполуки. Приблизно половина з них мають штами, які здатні використовувати цитрат як джерело Карбону та енергії.

Метою наших досліджень було з'ясувати особливості метаболізму різних джерел Карбону: глюкози, метанолу, етанолу, лимонної кислоти у метилотрофних дріжджів *H. polymorpha* з пошкодженою глюкозною репресією та біогенезом пероксисом.

Делеція гена *GCR1*, який кодує високоафінний сенсор глюкози, призводить до пошкодження глюкозної репресії генів, продукти яких задіяні в біогенезі пероксисом – органел, в яких відбуваються ключові реакції утилізації метанолу, та генів метаболізму альтернативних до глюкози джерел Карбону (метанол, етанол, цитрат та ін.). Попередніми дослідженнями було встановлено, що на відміну від штаму дикого типу, мутанти *H. polymorpha* з пошкодженою глюкозною репресією здатні утилізувати цитрат як єдине джерело Карбону. Відомо, що в еукаріотів, до яких належать одноклітинні дріжджі *H. polymorpha*, деякі ферменти гліюксилатного циклу є асоційованими з пероксисомами. Було з'ясовано, що у разі введення мутації *Δpex3*, яка пошкоджує біогенез пероксисом, у геном штаму *H. polymorpha* *Δgcr1*, здатність клітин утилізувати цитрат пригнічувалася у порівнянні із вихідним штамом *Δgcr1*.

Аналіз росту штамів дикого типу (NCYC495pr), *Δgcr1*, *Δgcr1Δpex3* на середовищах із змішаними субстратами: метанолом і цитратом, етанолом і цитратом, а також глюкозою і цитратом виявив, що штами з пошкодженою глюкозною репресією першими утилізують як джерело Карбону глюкозу, метанол чи етанол і лише згодом цитрат. У разі вирощування на середовищі з метанолом і глюкозою, чи етанолом і глюкозою ці штами утилізують обидва субстрати одночасно. Отже, пошкодження глюкозної репресії дозволяє клітинам дріжджів *H. polymorpha* паралельно утилізувати джерела Карбону шляхом гліколізу та глюконеогенезу.

Козаков Д.^{1,2}, Грязнова Т.², Кропивко С.²

ВИЗНАЧЕННЯ МОТИВІВ ЗВ'ЗУВАННЯ WIP З НОВИМИ БІЛКАМИ-ПАРТНЕРАМИ

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка
ННЦ "Інститут біології та медицини"

вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01601, Україна

²Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

вул. Академіка Заболотного, 150, м. Київ, 03143 Україна

e-mail: sanchobred@gmail.com

Kozakov D., Gryaznova T., Kropyvko S. MAPPING THE REGIONS OF NEW WIP BINDING PARTNERS. WIP (WASP-interacting protein) is a widely-expressed actin-binding protein that regulates stability, location and function of WASP and N-WASP and participates in cellular signaling, endocytosis and actin cytoskeleton remodeling. WIP together with N-WASP are located in invadopodia and play a crucial role in their formation. In this study 6 new binding partners of WIP were found and the locations of their binding sites were mapped on proline-rich domain of WIP.

Перебудови актинового цитоскелету є важливими для низки клітинних процесів, таких як клітинна міграція, адгезія, екзо-/ендоцитоз і інвазія. В регуляції цих процесів важливу роль відіграє N-WASP, який активують Arp2/3 комплекс та полімеризацію актину. Активність і стабільність WASP регулюється його партнером у клітині – WIP (WASP Interacting Protein).

WIP – пролін-збагачений білок, що відіграє важливу роль в організації актинового цитоскелету, ендоцитозі та в клітинній полярності. N-WASP та WIP мають помітний ефект на клітинну Arp2/3-залежну динаміку актину, яка важлива для клітинної інвазії. WIP бере

участь у деградації позаклітинного матриксу та формуванні інвадоподій та подосом. Високі рівні експресії WIP характерні для різних інвазивних клітин раку молочної залози.

Метою роботи було дослідження зв'язування WIP з білками, що беруть участь у регуляції актинового цитоскелету, передачі сигналу у клітині, ендо- та екзоцитозі, такими як: SRC, PLCg1, CRK, GRB2, AMPH1, BIN1 та визначення сайтів зв'язування пролін-багатого домену WIP з SH3-доменами цих білків.

Для виявлення взаємодії та картування мотивів зв'язування пролін-багатого домену WIP з SH3-доменами SRC (повсюдно експресованою (SRC) та нейронспецифічною (N-SRC) формами), PLCg1, CRK, AMPH1, BIN1, CTTN та білка GRB2 було обрано повнорозмірний WIP та три делеційних мутанти: WIP-wt, WIP Δ 450-500, WIP Δ 216-500 і WIP Δ 1-318 відповідно (за допомогою символу «дельта»- Δ позначаються відсутні амінокислоти мутантного білка у порівнянні з повнорозмірним). За допомогою GST Pull-down було перевірено взаємодію WIP та його мутантів з SH3-доменами нових білків-партнерів.

У результаті експерименту було виявлено взаємодію WIP з 6 новими партнерами: SRC, N-SRC, PLCg1, CRK, AMPH1, BIN1 та білком GRB2. Також було встановлено, що актин-зв'язуючий білок WIP модулює асоціацію SH3-доменів білків-партнерів з актином: β -актин був детектований у комплексі WIP з SRC, PLCg1, CRK, AMPH1, тоді як у комплексі WIP з N-SRC та BIN1 β -актина не виявлено. Картовано сайти взаємодії WIP з білками-партнерами, а саме: сайт взаємодії WIP з BIN1 знаходиться у WASP-зв'язувальному мотиві, сайти зв'язування з N-SRC та AMPH1 знаходяться в ділянці пролін-багатого домену WIP з 215 по 500 а.к.з. та мотиви зв'язування з SRC, PLCg1, CRK, GRB2 знаходяться уздовж всього пролін-багатого домену WIP.

Кравчишин Н.¹, Фінюк Н.², Гачкова Г.¹, Заїченко О.³, Стойка Р.^{1,2}

**КОМПЛЕКСОУТВОРЕННЯ ПЛАЗМІДНОЇ ДНК З НОВИМИ ПОЛІМЕРНИМИ
НОСІЯМИ З МЕТОЮ ЇЇ ЕФЕКТИВНОГО ВВЕДЕННЯ У КЛІТИНИ МОХУ
*CERATODON PURPUREUS***

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна

²Інститут біології клітини НАН України
вул. Драгоманова, 14/16, Львів, 79005, Україна

³Національний університет «Львівська політехніка»
вул. С. Бандери, 12, Львів, 79000, Україна
e-mail: nelya.kravchyshyn@gmail.com

Kravchyshyn N., Finiuk N., Hachkova H., Zaichenko O., Stoika R. COMPLEXATION OF PLASMID DNA WITH NEW POLYMERIC CARRIERS FOR ITS EFFICIENT DELIVERY INTO MOSSED *CERATODON PURPUREUS* CELLS. Genetic engineering is important for engineering aimed at creating transgenic plants with improved biological properties, such as resistance to various environmental factors and nutritional characteristics. Thus, development of new carriers for delivering foreign genes into plant cells is an actual biotechnological problem. We have found that novel polymeric carriers form complexes with plasmid DNA, and polymer F8DM2 was found to be the most perspective for delivering plasmid DNA into moss *Ceratodon purpureus*.

Генетична інженерія є важливою для створення трансгенних рослин з метою покращення біологічних властивостей, таких як стійкість до чинників навколишнього середовища та харчові характеристики. Тому зростає необхідність у пошуку нових носіїв для доставки чужорідних генів у клітини рослин. Одним із найпоширеніших методів доставки генів у клітини-мішені є застосування катіонних полімерів.

Метою роботи було дослідити можливість використання нових вітчизняних полімерних носіїв для доставки плазмідної ДНК у клітини моху *Ceratodon purpureus*.

Як модельний об'єкт, у роботі, використовували мох *C. purpureus*. Для його генетичної трансформації використовували катіонні полімери, синтезовані на кафедрі органічної хімії Національного університету "Львівська політехніка". Встановлено, що усі досліджувані полімери (БГА-22, БГА-22 (модифікований фосфатидилхоліном), БГ-24, БГ-25, БГ-26, 83/6, 83/5с, 83/5с (модифікований фосфатидилхоліном) та F8DM2) утворюють комплекс із плазмідною ДНК рEGFP-с1 у діапазоні концентрацій 0,01-0,1 % полімеру на 1 мкг плазмідної ДНК. При використанні полімерних носіїв БГА-22 (модифікованого фосфатидилхоліном), БГ-25 і БГ-24 отримано по 1-ій колонії трансформантів моху *C. purpureus*; 83/6, 83/5с (модифікованого фосфатидилхоліном), БГА-22 та БГ-26 – по 2 колонії; 83/5с – 3 колонії, а F8DM2 – 83 колонії. При використанні PEG6000, як стандартного носія плазмідної ДНК трансформантів не отримано.

Утворення комплексу плазмідної ДНК з усіма досліджуваними полімерами підтверджено за допомогою методу затримки руху ДНК в агарозному гелі. Полімер F8DM2 є найбільш перспективним носієм ДНК у клітині моху *C. purpureus*.

Лавриненко К., Арешков П.

ДОСЛІДЖЕННЯ ОНКОГЕННИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ГЕНІВ *CHI3L1* ТА *CHI3L2*
НА КЛІТИНАХ ЛІНІЇ 293 З ВИКОРИСТАННЯМ ЛЕНТИВІРУС-ОПОСЕРЕДКОВАНОЇ
СИСТЕМИ ТРАНСДУКЦІЇ

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка
ННЦ "Інститут біології та медицини"

вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01601, Україна

²Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

вул. Академіка Заболотного, 150, м. Київ, 03143, Україна

e-mail: kirlavrinenko@gmail.com

Lavrinenko K., Areshkov P. STUDY OF ONCOGENIC PROPERTIES OF *CHI3L1* AND *CHI3L2* GENES IN 293 CELL LINE VIA LENTIVIRAL TRANSDUCTION SYSTEM. Human *CHI3L1* and *CHI3L2* are the most homologues chitinase-like proteins and *CHI3L1* can be considered as a strong oncogene with mitogenic properties of corresponding protein. Earlier we showed that the *CHI3L2* treatment of serum-starved cells, in contrast to *CHI3L1* mitogen, leads to grow arrest. Here we report that ectopic expression of either *CHI3L1* or *CHI3L2* genes in HEK293 cells *via* lentiviral transduction triggered appearance of malignant transformation features acquirement.

Сучасна модель молекулярних механізмів розвитку злоякісних новоутворень відображає складну картину генетичних аномалій з активацією чи інактивацією онкогенів або генів супресорів пухлин. Раніше нами було ідентифіковано гени *CHI3L1* та *CHI3L2* як ті, що найвиразніше збільшували рівень своєї експресії в гліобlastомах [Kavsan et al., 2007]. Також, підвищення експресії *CHI3L1* детектовано в зразках багатьох видів солідних злоякісних пухлин людини [Johansen et al., 2004]. *CHI3L1* і *CHI3L2* є секреторними представниками родини хітиназоподібних білків ссавців [Bussink et al., 2007]. Показано, що глікопротеїн *CHI3L1* стимулює ріст первинних клітинних ліній сполучної тканини людини [Recklies et al., 2002]. Результати вивчення просторової моделі та функціональних особливостей *CHI3L2* продемонстрували високу подібність його структури до інших хітиназоподібних білків людини [Shimpl et al., 2012] і, насамперед до глікопротеїну *CHI3L1* [Iershov et al., 2010]. Раніше нами було показано, що на противагу до мітогену *CHI3L1*, *CHI3L2* характеризується анти-мітогенним ефектом на іморталізовані клітини ліній 293 та U-251, призводячи до пригнічення їхньої життєздатності [Areshkov et al., 2012].

Метою нашої роботи було провести дослідження та порівняння онкогенних властивостей *CHI3L1* та *CHI3L2* на клітинах лінії 293. Для забезпечення ектопічної експресії

даних генів було обрано метод лентівірус-опосередкованої трансдукції відповідних рекомбінантних кДНК у геном клітин.

Аналіз клітин 293, з постійною експресією *CHI3L1*, *CHI3L2*, за допомогою МТТ-тесту продемонстрував, що сублінії клітин 293, які експресують як *CHI3L1*, так і *CHI3L2* в умовах присутності сироватки демонструють підвищений (≈ 2 рази) рівень клітинної життєздатності в порівнянні з контрольними лініями 293, або клітинами 293 з ектопічною експресією *GFP*.

Характерною особливістю злоякісно трансформованих клітин є здатність до утворення колоній у напіврідкому середовищі [Hanahan, 2000]. Сублінії 293, що експресують *CHI3L2*, та одна з субліній, що експресує *CHI3L1*, утворювали значно більшу (у 25-30 разів) кількість колоній у порівнянні з клітинами контрольних груп.

Отже, встановлено, що трансдукція кДНК *CHI3L2*, так само як і онкогену *CHI3L1*, призводить до набуття клітинами лінії 293 рис злоякісної трансформації, які проявляється у вигляді підвищення життєздатності та набуття здатності до субстрат-незалежного росту.

Мартісова М.¹, Маланчук О.¹, Панасюк Г.¹, Сербин Н.¹, Гут І.², Філоненко В.¹

ОТРИМАННЯ МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ ПРОТИ КОЕНЗИМУ А

*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул. Заболотного, 150, Київ, 03680, Україна*

*² Інститут структурної і молекулярної біології, Університетський коледж Лондону
вул. Гавер, Лондон WC1E 6BT, Велика Британія
email: rita_martisova@mail.ua*

Martisova M., Malanchuk O., Panasyuk G., Serbyn N., Gout I., Filonenko V. DEVELOPMENT OF MONOCLONAL ANTIBODIES SPECIFIC TO COENZYME A. Coenzyme A (CoA) is an essential cofactor in all living organisms and participates in the diverse anabolic and catabolic pathways. The changes in the level of CoA occur at several pathological conditions, but the exact role of CoA and its derivatives in the pathogenesis of the disorders is not well understood. At present, there are several methods for measuring CoA and its derivatives based on enzymatic assays, HPLC and mass spectrometry quantifications, however, each of these approaches has its own limitations. Therefore, the aim of this work was to develop a novel tool for measuring CoA species in different subcellular compartments or different cell types and tissues which would be highly useful for studying the consequences of altered CoA levels on cellular processes. For this purpose, for the first time, the monoclonal antibodies specific to CoA has been generated using hybridoma technique. The monoclonal antibody was shown to recognize specifically CoA in Western blotting, ELISA and immunoprecipitation, which makes this antibody a particularly valuable reagent for elucidating CoA function in health and disease.

Коензим А (КоА) є важливим кофактором у всіх живих організмах, а його тіоефірні похідні залучені до різноманітних анаболічних і катаболічних процесів, аллостеричних регуляторних взаємодій, регуляції експресії генів тощо. Біосинтез КоА є консервативним біосинтетичним шляхом від прокаріот до еукаріот і складається з п'яти ферментативних реакцій, що потребують наявності пантотенової кислоти, цистеїну та АТФ. Внутрішньоклітинний рівень КоА та його похідних змінюються у відповідь на позаклітинні стимули, стрес і метаболіти, а також за патологічних станів таких як онкологічні захворювання, метаболічні розлади, нейродегенеративні процеси. Вивчення механізмів біосинтезу КоА, ролі КоА та його похідних в регуляції фізіологічних процесів та їхньої дерегуляції при різних патологічних станах є підґрунтям для розробки нових діагностичних та терапевтичних підходів.

На сьогодні існують різні підходи для вимірювання рівня КоА та його похідних, які базуються на ензиматичних методиках, ГРХ та маспектрометрії. Однак, кожен з них має

певні обмеження. Тому метою цієї роботи було отримання та характеристика моноклональних антитіл, специфічних до КоА. Для цього було застосовано метод гібридомної технології. Для імунізації було використано КоА, кон'югований з білком-носієм KLH. Скринінг позитивних клонів проводили з використанням БСА, кон'югованого з КоА. В результаті було отримано моноклональні антитіла, що специфічно розпізнають КоА та КоА-похідні та не розпізнають його попередників – АТФ та цистеїну.

Таким чином, вперше отримано та охарактеризовано моноклональні антитіла до КоА, які специфічно розпізнають КоА і придатні для використання у Вестерн блотингу, ІФА та імунопреципітації. Такі властивості антитіл вказують на перспективність їхнього застосування для аналізу функцій КоА в нормі та за патологій.

Молочий Н.¹, Сеньків Ю.^{2,3}, Климишин Н.¹, Бергер В.³, Стойка Р.²

**РЕЦЕПТОР ФАКТОРА РОСТУ ФІБРОБЛАСТІВ ЯК ТЕРАПЕВТИЧНА МІШЕНЬ
У ЛІКУВАННІ ОСТЕОСАРКОМИ**

¹Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна

²Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, Львів, 79005, Україна

³Інститут ракових досліджень медичного університету Відня

Боршкегассе, 8а, Відень-1090, Австрія

nmolochiy@gmail.com

Molochiy N., Senkiv J., Klymyshyn N., Berger W., Stoika R. FIBROBLAST GROWTH FACTOR RECEPTOR (FGFR) AS A THERAPEUTIC TARGET IN OSTEOSARCOMA. Osteosarcoma – the most common malignant bone disease that is characterized by rapid development and early metastasis. Treatment of osteosarcoma involves the use of standard treatments (chemotherapy, surgery, and radiotherapy) and is long and ineffective. Therefore, the search of the new target can be necessary for treating this disease. In this research, we investigated the influence of already known drugs on studied properties of cell lines K7M2, on fibroblast growth factor receptor and on K7M2 change of concentration of various protein what leads to apoptosis.

Остеомна саркома (остеосаркома) – найпоширеніше злоякісне захворювання кісток, яке характеризується швидким розвитком і раннім метастазуванням. Лікування остеосаркоми передбачає застосування стандартних методів лікування (хіміотерапії, хірургічного втручання та променевої терапії), є тривалим та малоефективним. Тому постає важлива проблема пошуку як нових медичних препаратів, так і терапевтичних мішеней для лікування хвороби.

Метою роботи було дослідити рецептор фактора росту фібробластів, як терапевтичної мішені у лікуванні остеосаркоми.

Препарати понатініб, нінтеданіб, іматініб, дазатініб належать до інгібіторів тирозинкінази і мають подібні/суміжні мішені дії. Вплив цих препаратів досліджували на клітинах лінії K7M2 та її резистентних сублініях K7M2/pon (нечутлива до понатінібу, 2μM) та K7M2/pip (нечутлива до нінтеданібу, 10μM). Стабільність цих клітинних ліній моніторили за допомогою МТТ-тесту. Встановлено, що виведені сублінії характеризуються перехресною резистентністю до використаних у дослідженні препаратів. За допомогою ПЛР аналізу було з'ясовано, що у клітин резистентних ліній зменшується рівень експресії генів рецептора фактора росту фібробластів 1 та 2, що призводить до пригнічення росту клітин та апоптозу.

Зважаючи на дані Вестерн-блот аналізу, можна також стверджувати, що клітини резистентних ліній мають відмінні механізми резистентності і їх з'ясування є важливим

кроком для подальшого розуміння чутливості клітин лінії K7M2 до понатанібу, на відміну від впливу на них інших інгібіторів тирозинкіназ. Слід зазначити, що ця чутливість не пов'язана із динамікою накопичення понатанібу у клітинах.

Зниження концентрації білків ph-ERK 1/2, Src, ph-Src, S6 та ph-S6 свідчить про пригнічення проліферативних процесів у клітинах, про зниження біосинтезу білка та призводить до апоптозу. Зниження вмісту цих білків також пригнічує ангіогенез пухлини.

Отже, досліджено роль рецептора фактора росту фібробластів при впливі протиракових препаратів, що може мати значення у терапії остеосаркоми.

Пундор О. А., Сабадашка М. В., Сибірна Н. О.

**АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ КОНЦЕНТРАТУ ПРИРОДНОГО
ПОЛІФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ З ЧЕРВОНОГО ВИНОГРАДНОГО ВИНА
ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: pundoroksana@gmail.com*

Pundor O.A., Sabadashka M. V., Sybirna N. O. ANTIOXIDANT PROPERTIES OF RED WINE POLYPHENOLIC COMPLEX CONCENTRATE UNDER EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS. The aim of the work was to determine parameters that characterize oxidant – antioxidant balance in leukocytes under experimental diabetes and in the case of red one polyphenolic complex administration. It was show that polyphenolic complex concentrate nibbits the oxidative modification of lipids and proteins. Also red wine polyphenols help to reserve the activities of antioxidant enzymes within the normal range under the conditions of abetes mellitus. Despite of this the polyphenolic compounds obtained from red wine may be used a basis for new antidiabetic drugs.

Оксидативний стрес – це нездатність клітин подолати збільшення виділення активних форм кисню, що призводить до пошкодження клітинних структур. На сьогодні його вважають невід'ємною складовою патогенезу ЦД РОЗШИФРУВАТИ та його специфічних і неспецифічних ускладнень. Безпосередні компоненти оксидативного стресу – вільні радикали, можуть бути охарактеризовані як будь-які сполуки, здатні до незалежного існування та такі, що містять один або більше неспарених електронів. Радикальні та нерадикальні активні форми кисню за нормальних умов знаходяться в організмі на низькому рівні, їхні концентрації підтримуються завдяки балансу між інтенсивністю продукції та інактивації за участі ензиматичних та неензиматичних антиоксидантів.

Фенольні сполуки – це група біологічно активних речовин та їх похідних, які містять ароматичне кільце з однією або декількома гідроксильними групами. Відомо, що поліфеноли червоного вина можуть змінювати активність антиоксидантної ситеми захисту через вплив на концентрацію Ca^{2+} в клітині та фосфорилування ключових протеїнів шляху фосфатидилінозитил-3'-кінази/Akt за умов короткотривалої інкубації з клітинами, а також цим сполукам властива здатність нейтралізувати активні форми кисню.

Метою роботи було визначення показників, які характеризують прооксидантно-антиоксидантну рівновагу у лейкоцитах за умов експериментального цукрового діабету при введенні поліфенольного комплексу, одержаного з червоного виноградного вина.

Виявлене нами розбалансування функціонування ензимів системи антиоксидантного захисту за умов цукрового діабету 1 типу проявлялося у зростанні активності супероксиддисмутази та зниженні активності каталази порівняно з контролем. У разі введення концентрату поліфенольного комплексу тваринам з експериментальним цукровим діабетом активність ферментів поверталася до меж норми. При дослідженні

основних маркерів оксидативного стресу – ТБК-позитивних продуктів і карбонільних груп, виявлено їхнє достовірне зростання за умов цукрового діабету 1 типу, а при введенні концентрату поліфенольного комплексу накопичення продуктів перекисного окиснення ліпідів і окисної модифікації білків не відбувається.

Отже, одержані експериментальні дані свідчать про високу антиоксидантну здатність поліфенольного комплексу, який отриманий в концентраті з червоного вина.

Сливка Ю., Марценюк О., Горбач О., Зуєва О., Шичкін В.

ВИЗНАЧЕННЯ ВПЛИВУ КУЛЬТИВУВАННЯ НА РІВЕНЬ ЕКСПРЕСІЇ мРНК ГЕНІВ *AIRE*, *CD205*, *FOXN1* ТА *BAX* У ЗРАЗКАХ ТИМУСУ ЛЮДИНИ

НДЦ імунології та біомедичних технологій університету «Україна»

вул. Львівська, 23, м. Київ, 03115, Україна

e-mail: Slivka.ulia@gmail.com

Slivka Y., Martsenyuk O., Gorbach O., Zuieva O., Shichkin V. THE DEFINITION OF CULTIVATION IMPACT ON THE *AIRE*, *CD205* AND *FOXN1* mRNA EXPRESSION LEVEL IN HUMAN THYMIC SAMPLES. The aim of our work was to determine the impact of culturing on the dynamics of mRNA expression in thymus epithelial cells (TECs) after different time of freezing of the next marker genes: *FOXN1* (TEPCs), *CD205* (cortical TECs) and *AIRE* (medular TECs).

Тимус належить до центральних органів імунної системи, що відіграє важливу роль у диференціації Т-лімфоцитів за участю епітеліальних клітин (ЕК). У дітей із вродженими вадами серця під час операційного втручання проводять повну або часткову тимектомію, тому актуальною проблемою є збереження тканини тимусу у життєздатному стані та відновлення функції імунної системи в післяопераційний період за допомогою аутологічної трансплантації збережених тканин тимусу. Метою роботи було дослідити вплив культивування тканин тимусу на динаміку експресії мРНК основних маркерних генів ЕК тимусу людини: *AIRE* (медулярні ЕК), *CD205* (кортикальні ЕК), *FOXN1* (попередники ЕК) та проапоптичного гена *BAX* у зразках, що зберігалися у рідкому азоті, а також, що не піддавались кріобробці.

Тканина тимусу була надана Інститутом Серця МОЗ України від пацієнтів з вродженими вадами серця до 3-ох літнього віку. Клітинну суспензію тимусу отримували шляхом ензиматичної дисоціації (2 мг/мл колагенази та 0,1 мг/мл ДНази I) та зберігали у рідкому азоті у кріосередовищах, які містили 90% ембріональної бичачої сироватки (ЕБС) та 10% диметилсульфоксиду або 5% розчин Декстрану-40 та 5% диметилсульфоксиду. Зразки клітин культивували *in vitro* протягом 30 днів з використанням середовища RPMI 1640 + 5 % ЕБС. Клітини отримували шляхом трипсинізації на 3, 7, 14 та 30 добу культивування й у частині експериментів проводили збагачення суспензії CD326⁺ ЕК за допомогою магнітної селекції на QuadroMACS (Miltenyi Biotec, США). Для виділення сумарної мРНК використовували набір Direct-zol RNA MiniPrep (Zymo Research, США). Рівень експресії мРНК генів *AIRE*, *CD205*, *FOXN1* та *BAX* визначали методом ПЛР у реальному часі.

Встановлено, що рівень експресії мРНК гена *FOXN1* знижується зі збільшенням періоду культивування клітинної суспензії до 30 днів у всіх зразках тимусу. Найвищий рівень експресії гена *FOXN1* спостерігали на 3 день культивування у незбагаченій та збагаченій CD326⁺ клітинами культурі клітин. Високий рівень експресії мРНК гена *CD205* відмічено в некультивованій клітинній суспензії тимусу та після 3 днів її культивування. Рівень експресії мРНК гена *AIRE* був у десятки разів вищий, ніж *FOXN1* та *CD205* маркерних генів. Окрім того, збагачення клітинної суспензії CD326⁺ ЕК значно підвищувало рівень експресії мРНК гена *AIRE* в 7- та 14-денних культурах. Однак, при тривалому культивуванні рівень

експресії мРНК гена *AIRE* також значно знижувався. Рівень експресії мРНК проапоптичного гена *BAX* збільшувався в усіх зразках тимусу зі збільшенням періоду кріозберігання.

Отже, культивування клітин тимусу більше 3 діб призводить до зменшення популяції попередників ЕК та кортикальних ЕК та до збільшення популяції медулярних ЕК. Культивування більше 30 діб призводить до значного зменшення експресії генетичних маркерів ЕК всіх типів, тобто до заміщення культур ЕК іншими типами клітин. Довготривале кріозберігання зразків тимусу в рідкому азоті спричиняє підвищення загибелі клітин шляхом апоптозу під час їх культивування.

Робота була виконана в рамках проекту THYMISTEM (грант №602587) Сьомої Рамкової Програми Європейського Союзу для досліджень, технологічного розвитку та демонстрацій. Керівник проекту – д.б.н. Шичкін В.П. (v.shichkin@thymistem.org.ua).

Снегіренко О.¹, Романишин О.¹, Климишин Н.¹, Стасик О. В.², Стасик О. Г.¹

**РОЛЬ ДЕФІЦИТУ АРГІНІНУ В ДЕГРАДАЦІЇ АЛЬФА-СИНУКЛЕЇНУ ЛЮДИНИ В
МОДЕЛЬНИХ ШТАМАХ ДРІЖДЖІВ *HANSENULA POLYMORPHA***

¹Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

²Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна

e-mail: aleksandra.snegirenko@gmail.com

Snegirenko O., Romanishyn O., Klymyshyn N., Stasyk O. V., Stasyk O. G. EFFECT OF ARGININE DEFICIENCY ON HUMAN ALPHA-SYNUCLEIN DEGRADATION IN MODEL STRAINS OF YEAST *HANSENULA POLYMORPHA*. The aim of our study was to discover the degradation of human alpha-synuclein in model strains of yeast *H. polymorpha*. The process of general autophagy can be induced in yeast cells by Nitrogen source deficiency or limitation of arginine in cells which are auxotrophic on this amino acid. In our work we used model yeast strain (NCYC 495 / *SNCA Δass1*) for induction autophagy by limitation of arginine in these cells. Strain *gcr1-2 / SNCA* was used for investigation of processes of degradation of aggregated alpha-synuclein under Nitrogen deficiency in the growth medium. We found that arginine limitation occurred degradation of human alpha-synuclein. We demonstrated that under inhibition of autophagy this process occurred less slowly assuming possibility of partial degradation of human alpha-synuclein by autophagy. In other study we showed that human alpha-synuclein was not cleaved under inhibition of proteasome degradation. This observation points that alpha-synuclein can be target of autophagy-lysosome and proteasomal pathways of degradation in model strains of yeast *H. polymorpha*.

Білок альфа-синуклеїн вважається одним із факторів, що провокують хворобу Паркінсона: при захворюванні його структура порушується, стає аморфною і неупорядкованою, що призводить до утворення білкових агрегатів, а також до відмирання нейронів центральної нервової системи. Проблемаю сучасних наукових досліджень є розуміння процесу деградації альфа-синуклеїну та пошук природних чинників, які індукуватимуть автофагічну деградацію цього білка.

Метою роботи було дослідити шляхи деградації розчинної та агрегованої форми альфа-синуклеїну та з'ясувати роль дефіциту аргініну в автофаго-лізосомній деградації цього білка в модельних штаммах дріжджів *H. polymorpha*. У дріжджів процес загальної автофагії можна індукувати дефіцитом джерела Нітрогену в культуральному середовищі, а також дефіцитом амінокислот в ауксотрофів за цими амінокислотами. В наших експериментах ми використовували модельний штам дріжджів *H. polymorpha*, ауксотрофний за аргініном (NCYC 495 / *SNCA Δass1*), в якого альфа-синуклеїн перебуває в розчинній формі.

Штам *gcr1-2 / SNCA α* є зручним модельним об'єктом для вивчення деградації агрегованих форм альфа-синуклеїну. Для індукції деградації альфа-синуклеїнових агрегатів в цього штаму, клітини, вирощені на повноцінному середовищі, переносили у середовище з дефіцитом джерела Нітрогену. Для візуалізації химерних форм альфа-синуклеїну, злитого із зеленим флуоресцентним білком, використовували метод флуоресцентної мікроскопії та Вестерн-блотинг для підтвердження наявності α-синуклеїну в безклітинних екстрактах модельних штамів.

Нами було встановлено, що за дефіциту аргініну в культуральному середовищі в модельного штаму NCYC 495 / SNCAΔass1 відбувалась деградація α-синуклеїну. Виявлено, що за умов інгібування автофагії, деградація α-синуклеїну відбувалась повільніше, що свідчить про можливість часткової деградації α-синуклеїну шляхом автофагії. З'ясовано, що за інгібування протеасомної деградації деградація α-синуклеїну не відбувалась. Це свідчить про можливість деградації α-синуклеїну за участю протеасом. Такі спостереження дозволяють припустити, що α-синуклеїн людини може бути мішенню автофаго-лізосомної та протеасомної деградації клітинного матеріалу в модельних штаммах дріжджів *H. polymorpha*.

Чернявська М.¹, Стасик О. В.², Стасик О. Г.^{1,2}

**ВПЛИВ ІОНІВ Mn^{2+} НА ВЛАСТИВОСТІ МОДЕЛЬНИХ ШТАМІВ
HANSENULA POLYMORPHA, В ЯКИХ ПРОДУКУЄТЬСЯ
БІЛОК ЛЮДИНИ α -СИНУКЛЕЇН**

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005, Україна

²Інститут біології клітини НАН України
вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів 79005, Україна
e-mail: mariacherniavska1996@yandex.ru

Cherniavska M., Stasyk O.V., Stasyk O. G. EFFECT OF Mn^{2+} IONS ON PROPERTIES OF MODEL YEAST STRAINS *HANSENULA POLYMORPHA* PRODUCING HUMAN α -SYNUCLEIN. The aim of our study was to determine the influence of exogenous factors, such as different concentrations of Mn^{2+} ions, on properties of thermotolerant strains of yeast *Hansenula polymorpha*, which produced the human protein α -synuclein. We found that low concentrations of the metal do not significantly alter the growth of the model yeast strains. However, $MnCl_2$ in concentration 5 mM improved growth rate of *gcr1-2 / SNCA* α strain compared to the control wild type strain and strain formed α -synuclein aggregates (*gcr1-2 / SNCA* β) indicating some protective properties of the protein. This effect gradually disappears with increasing concentrations of $MnCl_2$. The data suggest that, perhaps, α -synuclein can function as a chelator of Mn^{2+} ions at certain concentrations of manganese chloride because there are specific binding sites of Mn^{2+} . We can also assume that cells of *H. polymorpha* model strains, like nerve cells, might somehow weaken the toxic effects of heavy metals on mitochondria, dysfunction of which is a marker of Parkinson's disease.

Сьогодні залишається невідомою істинна етіологія спорадичних форм хвороби Паркінсона (ХП), проте до факторів ризику належить вплив різних екологічних чинників, у тому числі вплив іонів важких металів. У фізіологічних кількостях іони Mn^{2+} є необхідними для нормального функціонування клітин людини, адже входять до складу низки ферментів, проте у великих кількостях призводять до клітинних змін, посилення оксидативного стресу, індукції апоптозу та можуть провокувати таке захворювання як манганізм, симптоми якого нагадують ознаки ХП. Проте, нещодавні дослідження на допамінергічних клітинах середнього мозку щурів виявили, що на ранніх етапах дії іонів Mn^{2+} на клітини, α -синуклеїн проявляє протекторні властивості. У клітинах, які активно синтезували цей

білок, токсичний вплив важкого металу на мітохондрії був менш виражений порівняно з контролем.

Метою роботи було з'ясувати вплив екзогенних чинників, а саме різних концентрацій іонів Mn^{2+} , на модельні штами термотолерантних дріжджів *Hansenula polymorpha*, у яких продукується людський білок α -синуклеїн.

У роботі були використані два модельні штами дріжджів *H. polymorpha*: *gcr1-2/SNCA* α , який продукує людський α -синуклеїн у розчинній формі, та *gcr1-2/SNCA* β , який утворює агрегати цього білка. У мінеральні ростові середовища було додано розчин $MnCl_2$ у кінцевих концентраціях (2 мМ, 5 мМ, 10 мМ). Встановлено, що низькі концентрації металу суттєво не змінювали ростові характеристики штамів. Однак, за концентрації $MnCl_2$, яка відповідала 5 мМ, спостерігалось покращення росту *gcr1-2/SNCA* α порівняно з контролем (штамом дикого типу) та штамом *gcr1-2/SNCA* β , в якого утворюються агрегати α -синуклеїну, що свідчить про певні протекторні властивості цього білка у розчинній формі. Цей ефект поступово зникає із збільшенням концентрації $MnCl_2$. Отримані дані дають змогу припустити, що α -синуклеїн може функціонувати як хелатор іонів Mn^{2+} за певних концентрацій хлориду мангану, адже містить специфічні сайти зв'язування з Mn^{2+} . Також можна припустити, що α -синуклеїн у клітинах модельних штамів *H. polymorpha*, подібно до нервових клітин, може певним чином послаблювати токсичний вплив іонів важкого металу на мітохондрії, дисфункція яких спостерігається у разі ХП.

Шпаковська І.-М.^{1,2}, Гарашук А.¹, Климишин Н.¹, Цирульник А.²

РОЗРОБКА МЕТОДУ ПОЗИТИВНОЇ СЕЛЕКЦІЇ МУТАНТІВ
PICHA GUILLIERMONDII З ПОШКОДЖЕНИМ ТРАНСПОРТОМ РИБОФЛАВІНУ
З ВИКОРИСТАННЯМ РОЗЕОФЛАВІНУ ЯК СЕЛЕКТИВНОГО МАРКЕРА

¹Львівський національний університет імені І. Франка

вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна

²Інституту біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, Львів, 79005, Україна

e-mail: irynamariash@gmail.com

Shpakovska I.-M., Harashchuk A., Klymyshyn N., Tsyurulnyk A. DEVELOPMENT OF NEW METHOD FOR A POSITIVE SELECTION OF *PICHA GUILLIERMONDII* MUTANTS WITH IMPAIRED RIBOFLAVIN TRANSPORT SYSTEM USING ROSEOFILAVIN AS SELECTIVE MARKER. Yeast *Pichia guilliermondii* has a riboflavin transport system. Transport of riboflavin (RF) into the cell is ensured by enzyme RF-permease, and excretion - due to the RF-excretase. The genes that encode proteins involved in the transport of RF (absorption and excretion), has not been cloned yet. Isolation of these genes and their amplification in genome of *P. guilliermondii* can help create strains that do not absorb RF or produce RF more efficiently. For this purpose it is advisable to use a method of insertion mutagenesis.

У *Pichia guilliermondii*, як і більшості мікроорганізмів є система транспорту (поглинання) рибофлавіну (РФ), що забезпечується РФ-пермеазами, а система екскреції – РФ-екскретазами. РФ-екскретаза, на відміну від РФ-пермеази, наявна й у штамів дикого типу *P. guilliermondii*, оскільки вони здатні до ефективної екскреції рибофлавіну за умов його надсинтезу. РФ легко транспортується у клітини дріжджів, які є ауксотрофами за цим вітаміном. Проте здатність транспортувати екзогенний РФ прототрофними за РФ клітинами не є обов'язковою. Штами дикого типу *P. guilliermondii* не поглинають помітних кількостей РФ. Водночас РФ-залежні мутанти *P. guilliermondii* виявляють здатність до транспорту цього вітаміну. Так, лише РФ-залежні мутанти *P. guilliermondii*, які можуть рости при дуже низьких концентраціях РФ (оптимальний ріст при 0,1-0,3 μg РФ/ml), поглинають із серед-

овища й акумулюють у клітинах значні кількості РФ, в результаті чого вони формують колонії жовтого кольору на агаризованих середовищах з вмістом РФ.

Гени, що кодують білки, задіяні в транспорті РФ, поки що не клоновано. Ідентифікація цих генів та їхня ампліфікація в геномі *P. guilliermondii* може допомогти у створенні штамів, які не поглинають РФ, або які ефективніше виділяють РФ у середовище й тому виявляють підвищений флавіногенний потенціал. Для здійснення такого завдання доцільно використовувати метод інсерційного мутагенезу.

Опрацювання методу інсерційного мутагенезу для *P. guilliermondii* було розпочато із конструювання інсерційної касети. Інсерційна касета містила маркерний ген *URA3* *S. cerevisiae*, під контролем конститутивного промотора гена *PGK1* *P. guilliermondii* та бактерійну частину плазмиди pUC57, до складу якої входить ген резистентності до ампіциліну (*bla*), ділянку ініціації реплікації (*ori*) і промоторну ділянку гена *LacZ*. Інсерційною касетою трансформували компетентні клітини мутанта *ura3* *P. guilliermondii*, що є ауксотрофом за урицилом. Як селективне середовище використовували мінеральне середовище YNB без урицилу з додаванням флавінового антибіотика розеофлавіну як селективного маркера. Попередньо було проведено аналіз впливу розеофлавіну на ріст штамів *P. guilliermondii* зі зміненою здатністю до поглинання рибофлавіну. З метою селекції інсерційних мутантів *P. guilliermondii* з пошкодженим транспортом рибофлавіну було проаналізовано прототрофні за урициолом трансформанти. Рекombінантні клони пересівали на багате середовище YPS з додаванням РФ, інкубували та відбирали колонії, які відрізнялися за здатністю до поглинання РФ.

Таким чином, запропоновано метод позитивної селекції штамів зі зміненою здатністю до поглинання рибофлавіну з використанням розеофлавіну та отримано відповідні трансформанти.

**Щербик К., Онищенко К., Дубровська А., Перета Л., Банас О.,
Григоренко В., Скрипкіна І.**

**ВИЗНАЧЕННЯ ТА ПОРІВНЯННЯ СТАТУСУ МЕТИЛУВАННЯ ГЕНІВ *GPX3*,
RUNX3 ТА *TIMP3* НА ПОЗАКЛІТИННІЙ ДНК ПЛАЗМИ КРОВІ ТА ДНК ПУХЛИН
У ПАЦІЄНТІВ ЗІ СВІТЛОКЛІТИННИМ РАКОМ НИРКИ**

*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул. Заболотного, 150, Київ, 03680, Україна
ДУ «Інститут урології НАМН України»
вул. Ю. Коцюбинського, 9-А, Київ, 04053, Україна
e-mail: katiashcherbyk@gmail.com*

Shcherbyk K., Onyshchenko K., Dybrovska A., Pereta L., Banas O., Grygorenko V., Skrypkinska I. DETECTION AND COMPARISON OF *GPX3*, *RUNX3* AND *TIMP3* GENES METHYLATION OF EXTRACELLULAR BLOOD PLASMA DNA AND DNA OF TUMORS IN PATIENTS WITH RENAL CELL CARCINOMA. It was indicated that tumor DNA can be used for detection of hypermethylation of cancer marker genes. CpG islands of *GPX3* gene was hyper methylated in 86% of cfDNA and in 78% of the tumor DNA of patients with renal cancer. Methylation of the *RUNX3* promoter was detected in 82% of cfDNA and in 76% of the renal cancer tumor tissue samples. CpG islands of *TIMP3* gene was low methylated. Obtained results indicate that hypermethylation of cfDNA of *GPX3* and *RUNX3* are a cancer-specific changes.

У світі щорічно діагностують близько 250 тисяч випадків захворювання на рак нирки, з яких 100 тисяч пацієнтів помирають [Holger, 2012]. Рак пов'язаний з різноманітними молекулярно-генетичними змінами. Гіперметилування генів-супресорів пухлини часто відбувається під час ракових захворювань і є перспективним маркером для виявлення раку

[Lasseigne, 2014]. Тому метою нашої роботи є визначення метилювання генів-супресорів пухлин та порівняння їхнього статусу на позаклітинній ДНК плазми крові (пкДНК) та геномній ДНК пухлини (гДНК) пацієнтів зі світлоклітинним раком нирки.

Дослідження проводили на зразках плазми крові, біопсій пухлини та прилеглих тканин п'ятдесяти хворих зі світлоклітинним раком нирки, отриманих за згоди пацієнтів.

Для перевірки метилювання зразки ДНК попередньо піддавали бісульфитній обробці, після чого проводили метил-специфічну ПЛР у режимі реального часу з праймерами, специфічними до метильованої форми генів-супресорів *GPX3*, *RUNX3* та *TIMP3*.

Аналіз результатів показав метилювання гена *GPX3* у 43 зразках пкДНК (86 %) та у 39 зразках гДНК пухлин (78 %). При цьому в 4 випадках, коли метилювання гена не спостерігалось у гДНК пухлини, у пкДНК плазми крові воно було виявлене. Після аналізу метилювання гена *RUNX3*, позитивні результати було виявлено у 41 зразку пкДНК (82 %) та 38 зразках гДНК пухлин (76 %). Із них у 5 зразках пкДНК плазми крові метилювання CpG-острівців гена *RUNX3* виявлялось навіть тоді, коли у гДНК пухлин це метилювання було відсутнє. В той же час метилювання гена *TIMP3* у пацієнтів спостерігалось у 7 зразках пкДНК (14 %) та 6 зразках гДНК пухлин (12 %), що свідчить про низький рівень метилювання.

Отримані дані дають інформацію про те, що гіперметилювання CpG-острівців промотору генів *GPX3* та *RUNX3* є досить характерним для світлоклітинної карциноми нирки, що свідчить про перспективність визначення статусу метилювання даних генів, як маркерів для створення діагностичних тест-систем для неінвазивної діагностики раку нирки.

Публікація містить результати досліджень, проведених при грантовій підтримці за конкурсними проектами 115U002951 Національної Академії Наук України та 0116U006539 Держаного фонду фундаментальних досліджень.

Borbulyak M.^{1,2}, Semkiv M.², Hryniv O.², Berezka K.³, Klymyshyn N.¹, Dmytruk K.²

THE ROLE OF THE GENE *TM11* IN ALCOHOLIC FERMENTATION
OF GLUCOSE AND XYLOSE BY THE YEAST *SCHIFFERSOMYCES STIPITIS*

¹Ivan Franko National University of Lviv
Hrushevskogo St. 4, 79005 Lviv, Ukraine

²Institute of Cell Biology of NAS of Ukraine
Drahomanova St. 14/16, 79005 Lviv, Ukraine

³University of Rzeszow
Zelwerowicza St. 4, Rzeszow 35-601, Poland
e-mail: borbulyak_m@ukr.net

Fuel ethanol from renewable lignocellulosic biomass has a great economic and ecological significance. However, the feasible technology for the bioethanol production from non-starch lignocellulosic materials has not been developed yet. The main reason is the absence of a robust microorganism capable of efficient alcoholic fermentation of all the main sugars of lignocellulose, most importantly, xylose. One of the microorganisms that utilize xylose is the yeast *Scheffersomyces (Pichia) stipitis*. Among the xylose-fermenting yeasts, *S. stipitis* seems to be the most promising for industrial application, because it ferments xylose with a high ethanol yield and low xylitol production.

The aim of this work is to investigate the role of the gene *TM11* (Transport into Mitochondria) in the alcoholic fermentation of glucose and xylose by the yeast *S. stipitis*. The possibility of the gene *TM11* influence upon the efficiency of alcoholic fermentation was revealed using the method of insertional mutagenesis combined with the positive selection of ethanol overproducers based on the usage of 3-bromopyruvate as a selective agent. 3-bromopyruvate specifically inhibits key enzymes of glycolysis: hexokinase, pyruvate kinase and pyruvate decarboxylase, so the yeast

cells resistant to 3-bromopyruvate should have intensified glycolysis and this may stimulate ethanol production during the alcoholic fermentation.

Among the selected 3-bromopyruvate resistant insertional mutants (strain #4.6) revealed reproducible 2 or 1.5-fold increase of ethanol accumulation during xylose or glucose fermentation, respectively. In this strain, the insertion cassette integrated into the open reading frame of the gene *TMII* (homologous to *Saccharomyces cerevisiae* gene *YDL119C*). The recombinant strain *Comp_TMII*, obtained by introduction of the vector with the gene *TMII* under native promoter on the strain #4.6 background, produced the same amount of ethanol during the alcoholic fermentation of xylose and glucose as a wild-type strain, and less than the insertion mutant. The cassette pUC19_Δ*tmI1*_HIS3_S.s for deletion *TMII* gene was constructed. The yeast strain *Ku80 S. stipitis* was transformed with deletion cassette and transformants were selected on the YNB medium without histidine. Among obtained transformants, strains with proper *TMII* gene deletion were selected by analytical PCR. Estimation of these mutants' fermentation efficacy is under the progress.

Obtained results revealed that the gene *TMII* is involved in the regulation of alcohol fermentation of glucose and xylose.

Gryniv Kh., Fayura L., Sybirna N.

KINETIC CHARACTERIZATION OF *MYCOPLASMA HOMINIS* SOLUBLE ARGININE DEIMINASE OVEREXPRESSED IN *ESCHERICHIA COLI*.

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: bibiol94@ukr.net*

Our studies aimed at evaluating arginine-degrading enzyme arginine deiminase (ADI - catalyzes the imine hydrolysis of arginine to produce citrulline and ammonia) as a promising anticancer drug or a key element for arginine biosensor construction. They are based on the previous findings that demonstrated the positive effect of arginine depletion on remission of certain types of cancer (mainly hepatocarcinoma and melanoma) *in vitro* and *in vivo*. The reported procedure for the production of *Mycoplasma hominis* ADI expressed in *Escherichia coli* is high cost and therefore needs to be improved.

A recombinant strain of *E. coli* which overexpress *M. hominis* gene encoding ADI was constructed. A protocol for high-level production of ADI by recombinant strain in a cheap mineral medium was developed. Previously, it was shown that rADI of *M. hominis* was accumulated as inclusion bodies in *E. coli*. but in this study, we evaluate the expression of soluble ADI in *E. coli*.

The activity of *M. hominis* soluble ADI in *E. coli* cell-free extracts was determined.

The enzyme was purified by anion-exchange chromatography using Q-Sepharose column and a linear gradient of 0-1 M NaCl in 20 mM sodium phosphate buffer. The active fractions were pooled and NaCl was adjusted to 2 M. The enzyme was applied to a Phenyl-Sepharose column, washed with 20 mM sodium phosphate buffer containing 2M NaCl and eluted with the buffer containing 1M NaCl. As a result, stable enzyme preparations with a specific activity of 15-20 U/mg of protein were obtained.

The affinity for arginine (K_m) and K_{kat} values of soluble ADI were examined in phosphate buffer, pH 6,5 at 37°C. The K_{kat} and K_m ($S_{0,5}$) values were determined from initial velocity data measured as a function of substrate concentration. All assay was performed in triplicate and the means of 3 separate experiments are presented in Line Weaver Burk plot. The value of V_{max} for soluble ADI was a 0,019 $\mu\text{M}/\text{min}\cdot\text{ml}$ and value of K_m was $100\pm 20 \mu\text{M}$ that is 3-fold lower compared to rADI of *M. hominis* accumulated as inclusion bodies in *E. coli* [Fayura, 2013]. The K_{kat} was calculated from the ratio V_{max} and enzyme concentration. The K_{kat} value for soluble ADI was $260\pm 4 \text{ c}^{-1}$ that is 5,2-fold higher than for insoluble enzyme. The enzymatic efficiency

(Kkat/Km) for ADI was $2630 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$. that is 15,6 fold higher compared to renaturated ADI from inclusion bodies. The possible application of obtained ADI preparations will be discussed.

Herheliuk T.¹, Perepelytsina O.¹, Ostapchenko L.², Yakymchuk O.¹, Sydorenko M.¹

COMPARISON OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF C-MEDIUM
FROM MESENCHYMAL STEM CELLS ON 2D AND 3D CELL CULTURES OF MCF-7

¹*Department of Biotechnical Problems of Diagnostics*

*Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine, National Academy of Science of Ukraine
42/1, Nauky ave, Kiev, 03028, Ukraine*

²*Educational and Scientific Centre "Institute of Biology & Medicine"*

2, Glushkova ave., Kiev, 03187, Ukraine

e-mail: gergelyuk87@mail.ru

Cancer is a molecularly heterogeneous disease and one of the major causes of death worldwide. Mesenchymal stem cells (MSCs) are used in oncology, due to their ability to influence on inflammation, cell survival, and migration. But the effect of MSCs on tumor cells is contradictory. MSCs can stimulate and inhibit the tumor process, depending on the components of the micro-environment, genesis, and stage of differentiation. Cancer cell lines are widely used in cancer development studies and for testing of the anti-cancer drugs. Recent studies have shown that an adequate model of the tumor population *in vitro* is a multilayer (3D) cell culture (multicellular tumor spheroids, MCTS). MCTS model helpful for the understanding of disease development mechanisms, invasion, metastasis and resistance to anticancer therapy. In the tissue *in vivo* tumor cells have strong connections with neighboring cells and the extracellular matrix. Also, the 3D cell cultures are useful for evaluating the impact of cell-cell interactions on tumor development *in vitro*. The aim of this study was to compare the influence of biologically active substances from mesenchymal stem cells (MSCs) on proliferation, survival, receptor profile of MCF-7 on adhesion (2D) and suspension (3D) models *in vitro*.

Materials and methods. An MCF-7 cell line (breast adenocarcinoma) was kindly offered by the bank of Cell Lines from Human and Animal Tissues, Kavetsky' Institute of Experimental Pathology, Oncology and radiobiology, National Academy of Science of Ukraine. The monolayer cell culture was cultured at standard conditions (37°C, 5 % CO₂, humidity 95 %), using DMEM nutrient medium (Dulbecco's Modified Eagle Medium, «Sigma», USA) with 10 % fetal serum (Sigma, USA), 2 mM L-Glutamine (Sigma, USA), and 40 mg Gentamicin (Biopharma, Ukraine). The initial density of inoculated cells was 2×10^4 cells/cm². The cells were incubated for two days before their use in the experiment. For the initial generation of spheroids, the monolayer cell culture was removed from the substrate after the four-day incubation, using 0,25 % Trypsin-EDTA, and placed in a nutrient medium with 5% carboxymethylcellulose (Bio-Rad, USA) at a concentration of 5×10^5 cells/ml. Then the plates were incubated on an orbital shaker (Orbital shaker, PSU-10i, Biosan, Latvia) at 50 rpm for 3-5 hours. Half of culture medium was replenished every 3 days. MSCs were cultured with multicellular spheroids MCF-7 (3D-culture) by a non-contact method. Cell viability was evaluated by MTT assay. Detection of markers was performed using IHC method with primary monoclonal antibodies Ck (clone AE1/AE3, Dako, USA), ER α (clone EP1, Dako, USA), EGFR (Dako, USA), E-cadherin (Dako, USA).

Results. We compared the effect of C medium from MSCs on 2D and 3D cell cultures models. We noted that adhesive culture is more sensitive to the action of factors that are produced by MSCs compared to spheroid culture. C medium from MSCs inhibited proliferation activity and migration ability of tumor cells after 6 days of cultivation. Factors from MSCs reduces the volume of spheroids more than 2 times compared with the control. The significant difference was observed in the expression of tumor-associated markers (ER, p53, vim, EpCAM, Cks and EGFR) in 2D and 3D cell cultures under influence of C medium from MSCs.

**Kitsera M.^{1,2,3}, Finiuk N.¹, Sokolova V.³, Epple M.³, Mitina N.⁴,
Zaichenko A.⁴, Sybirna N.², Chayka Ya.², Stoika R.¹**

**MULTILAYER HYDROXYAPATITE NANOPARTICLES FOR DNA
DELIVERY INTO MAMMALIAN CELLS**

¹ *Institute of Cell Biology of NAS of Ukraine
Drahomanov St. 14/16, 79005, Lviv, Ukraine*

² *Ivan Franko National University of Lviv
Hrushevskogo St. 4, 79005, Lviv, Ukraine*

³ *University of Duisburg-Essen, Institute of Inorganic Chemistry, Essen, Germany*

⁴ *Lviv Polytechnic National University, Lviv, Ukraine
e-mail: maximusslviv@gmail.com*

Gene therapy has become an effective strategy for the development of novel therapeutics for the treatment of many types of cancer, including breast, ovarian, prostate, and cervical carcinoma. A fundamental engineering challenge of gene-based therapy is the development of safe and effective DNA delivery vectors. Both viral and non-viral vectors are used in preclinical and clinical trials for a systemic DNA delivery. Non-viral gene therapy has a potential to address many of these limitations, particularly with respect to bio-safety. A strategy was proposed to construct the ultrasensitive pH-triggered charge/size dual-rebound gene delivery system for efficient DNA delivery.

The aim of this work was to develop a safe and efficient system for DNA delivery into human cells.

The nanoparticles with hydroxyapatite core and an additional shell of DNA or RNA were synthesized. These particles were characterized by using several biophysical methods such as DLS, SEM, and EDEX. Besides, we performed the transfection assay and estimated the results by fluorescent microscopy and FACS analysis. The cytotoxicity effect was studied using MTT assay.

Novel vectors perfectly fit for delivery of DNA and other negatively charged molecules by size and charge. It was found that new delivery systems were more efficient for DNA and RNA delivery into various lines of human normal and tumor cells compared to the Polyfect and Lipofectamine reagents that are commonly used for that purpose. They did not show a significant cytotoxic effect towards cultured human cells. They were used for delivery of genes coding for p21 and p53 proteins into tumor cells. Besides, these nanoparticles protected DNA from digest by the DNase I.

Thus, novel multilayer hydroxyapatite nanoparticles demonstrated high transfection efficiency with different plasmids for various types of human normal and tumor cell lines and showed a low cytotoxic effect at using the MTT assay.

Kozak Yu.^{1,2}, Lehka L.², Skorokhyd N.², Panchuk R.², Stoika R.^{1,2}

**APPLICATION OF SELENOMETHIONINE AND D-PANTETHINE FOR MODULATING
ANTITUMOR ACTIVITY OF DOXORUBICIN: IN VITRO STUDY**

¹ *Ivan Franko National University of Lviv
Hrushevsky Str. 4, Lviv, 79005, Ukraine*

² *Institute of Cell Biology NAS of Ukraine
Drahomanov Str 14/16, Lviv, 79005, Ukraine
E-mail: juliana.kozzak@gmail.com*

Cancer is one of the main reasons of death-rate. Doxorubicin (Dx) is among the most commonly used anticancer drugs in clinics. The main way of Dx action is inducing apoptosis process by intercalation into DNA structure. The secondary mechanism of Dx action is a production of reactive oxygen species (ROS) under the influence of this drug. It was shown that the production of hydroxyl radicals is the main cause of Dx side effects such as cardio- and nephrotoxicity. Thus, using antioxidant agents for the modulation of cytotoxic effects of antitumor drugs is of great interest. Blocking of ROS by specific antioxidant agents should significantly

reduce the toxicity of Dx towards normal cells of the organism. The pantothenic acid (D-Ph) and selenomethionine (Se-Met) are promising candidates for the role of such agents.

The aim of our study was to investigate the content of ROS in B16F10 melanoma cells under the action of SeMet and D-Pt in combination with Dx. We have compared ROS content in melanoma cells using a complex treatment scheme, as well as Dx applied alone.

For measuring ROS content, *B16F10 melanoma cells* were incubated for 3, 6, 12 and 24 h with studied antioxidant compounds used alone or in combination with Dx. Then the fluorescent dyes dihydro dichlorofluorescein diacetate (DCFDA, H_2O_2 -specific) and dihydroethidium (DHE, $O_2^{\cdot-}$ -specific) were added to control and drug-treated cells. After the incubation with the dyes, the cells were gently trypsinized, washed with PBS, and immediately analyzed by Becton-Dickinson flow cytometer.

The non-toxic concentration of SeMet and D-Pt, as well as the LC_{50} or LC_{75} doses (lethal concentration of drug that kills 50 % or 75 % cells) of Dx we used in Trypan blue cytotoxicity assay. We have shown that B16F10 melanoma cells are relatively resistant to Dx action, with $LC_{50} = 5 \mu M$ and $LC_{75} = 10 \mu M$. Dx in 5 μM and 10 μM concentrations caused a significant (4-5-fold) and time-dependent increase in the level of hydrogen peroxide and superoxide anions that were measured by the DCFDA and DHE assays, correspondingly. However, SeMet and D-Pt failed to modulate these effects of Dx at most of the studied time terms (3, 6 and 12 h). A statistically significant decrease (30%) of superoxide anions under SeMet action was observed only in 24 h after the start of B16 melanoma cell treatment with high dose (10 μM) of Dx. D-Pt was partially decreasing hydrogen peroxide levels only at long-term (24 h) treatment of cells with a lower dose (5 μM) of Dx. These results allow one to suggest ROS scavenging capacity of SeMet and D-Pt do not play a decisive role in modulating Dx toxicity at least in the case of B16 melanoma cells. It was shown that Dx-induced nephrotoxicity is accompanied by the oxidative stress [R. R. Panchuk, N. R. Skorokhyd, Yu.S. Kozak et al.]. Antioxidants selenomethionine and D-pantethine decrease negative side effects of doxorubicin in NK/LY lymphoma-bearing mice [Croatian Medical Journal. - 2016. - Vol. 57 (No. 2). - P. 180-193], and present our data demonstrate that the molecular mechanisms of the melanoma cell protection by SeMet and D-Pt against Dx action is more complicated than a simple scavenging of the hydrogen peroxide and/or superoxide anions whose production is induced by Dx.

Ohienko S., Bondar A.

AGE AFFECTS THE "BEHAVIOUR" AND THE SENSIBILITY TO COPPER ION OF ANIMALS' BONE MARROW CELLS IN PRIMARY CULTURE

*Research Institute of Biology, V. N. Karazin National University of Kharkov
pl. Svobody, 4, Kharkiv, 61022, Ukraine
e-mail: ohienko.svetlana@gmail.com*

The bone marrow cells (BMC) culture has been chosen for an assessment of liver fibrosis influence on an organism. These cells are the actively proliferating; therefore, they are the most responsive to exogenous and endogenous impacts. Consequently, the aim of the present study is to investigate the liver fibrosis and copper ion effects on the primary culture of BMC isolated from young and old animals.

The growth rate of BMC culture, the influence of the copper ion concentration on the growth rate of BMC culture, the pattern of major cell types of bone marrow and "lifespan" of BMC in the primary culture of the intact old and young animals, and animals with Cu-induced fibrosis was investigated.

The experiments have been done on three-months-old and twenty-months-old *Wistar* rat males. All the animals were divided into 4 groups. The 1st – intact animals; the 2nd – animals with Cu-induced fibrosis, which is induced as described at [Bozhkov, 2016]; the 3rd – intact animals, which isolated culture of BMC were cultivated with 4 mM and 8 mM $CuSO_4 \cdot 5H_2O$; the 4th – animals with Cu-induced fibrosis, which isolated culture of BMC were cultivated with 4 mM and 8 mM $CuSO_4 \cdot 5H_2O$.

Bone marrow cells were isolated from two animal femurs by the method as described at [Amend, 2016] and were cultured in 199 culture media with antibiotics (8% gentamycin and 8% streptomycin) and 20% inactivated fetal calf serum. The calculation and assessment of the viability of bone marrow cells were carried out as in work [Bozhkov, 2014]. Determination of morphotypes of BMC was carried out immediately after the suspension of obtained bone marrow, as well as on the 2nd and 4th days of cultivation as described at [Lewandowski, 2012]. The initial concentration of bone marrow cells at beginning of cultivation was 2 million cells/ml.

The rate of culture growth in control of BMS obtained from old animals was greater in primary culture than of young animals. The Cu-induced fibrosis had a different influence on the rate of BMC culture growth of old and young animals.

The adding of 4 mM and 8 mM CuSO₄·5H₂O in BMC culture of young and old animals resulted in a dose-dependent inhibition of growth rate of young animal cells. In the case of copper ions were administrated into the culture of old animal' BMC, the inhibition of growth rate was lesser than for young animals.

The Cu-induced liver fibrosis was accelerated rate of BMC death of old and young animals. However, this effect was more pronounced in young animals.

The eight major morphological types of BMC isolated from young and old animals were identified. There were band neutrophils, metamyelocytes, lymphocytes, neutrophils, segmented, myelocytes, eosinophils, basophils, and monocytes. The development of liver fibrosis changed the morphotypes pattern of young animals and had no effect on it of old animals.

The "lifespan" of BMC in the primary cultures depended on the age of the animal. The Cu-induced liver fibrosis accelerated the death of various cell morphotypes except segmented neutrophils isolated from old animals.

Summing up, it is suggested that during ontogenesis in bone marrow cells occur such epigenetic changes that alter their functional properties.

Romanyshyn O.¹, Snegirenko O.¹, Klymyshyn N.¹, Stasyk O. V.², Stasyk O. G.¹

**YEAST MODEL OF ALPHA-SYNUCLEIN DEGRADATION
UNDER DIFFERENT GLUCOSE UPTAKE CONDITIONS**

¹ Ivan Franko National University of Lviv

Hrushevskogo St. 4, 79005 Lviv, Ukraine

² Institute of Cell Biology of NAS of Ukraine

Drahomanov St. 14/16, 79005 Lviv, Ukraine

e-mail: lesia03@ukr.net

Autophagy is important in development, differentiation, cellular remodeling and survival during nutrient starvation. Increasing evidence suggests that autophagic dysregulation causes accumulation of abnormal proteins or damaged organelles, which is a characteristic of chronic neurodegenerative conditions, such as Parkinson disease (PD). Evidence from post-mortem material, transgenic mice, and animal and cellular models of PD suggests that both major autophagic pathways are malfunctioning [Xilouri et al., 2011]. The fact that constitutive macroautophagy is essential for neuronal homeostasis was highlighted by two landmark studies which showed that genetic ablation of essential macroautophagy genes (Atg5 or Atg7) in the mouse control nervous system led to neuronal degeneration within the first few months of life [Komatsu et al., 2006].

Protein misfolding and aggregation can be deleterious to all cell types. Reasoning that α -synuclein (α -syn) accumulation might pose a similar problem to yeast cells as it does to neurons, and that it, therefore, represents a particularly tractable platform to investigate the cell biology of these defects, our research group created a yeast model of α -syn cellular toxicity using nonconventional methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha*. We began by constructing a yeast strain that expressed α -syn fused to the green fluorescent protein (GFP) to allow in vivo visualization of the protein.

One gcr1-2-mutant strain producing human α -syn fused with GFP (a marker of tagged protein localization) were used in this study. The gcr1-2 mutation is the result of missense point mutation that substitutes a serine residue (Ser⁸⁵) with a phenylalanine in the second predicted transmembrane segment of the Gcr1 protein. gcr1-2-SNCA mutant strain deficient in catabolite repression and glucose transport exhibited enhanced aggregation of fluorescently tagged α -syn. These effects are not a direct function of the impaired glucose metabolism as were also observed in cells grown on a gluconeogenic substrate. The previously constructed NCYC495/SNCA-GFP strain showed the presence of a soluble cytoplasmic form of α -syn. Both strains were used for investigation of autophagic degradation of α -syn under the limitation of glucose as carbon source. Implementing the deletion of HpASS1 gene encoding argininosuccinate synthetase 1 we used for promoting conditions of arginine limitation and inducing autophagy mechanisms in model yeast strains. We have constructed strains NCYC495/SNCA-GFP/ Δ ass1 (NCYC495/SNCA-GFP/5'ASS-NAT-3'ASS) with normal glucose transport and gcr1-2/SNCA-GFP/ Δ ass1 (gcr1-2/SNCA-GFP/5'ASS-NAT-3'ASS) with impaired glucose uptake. Such model objects can provide the research with novel data concerning the degradation of both aggregates and soluble oligomers of human α -syn and ways of its manipulation.

Zygielewicz E.

THE ASSOCIATION BETWEEN HYPERBILIRUBINEMIA AND *UGT1A1* GENE PROMOTOR POLYMORPHISM IN GILBERT'S SYNDROME

*University of Zielona Góra, Faculty of Biological Sciences
Szafrana st. 1, 65-516, Zielona Góra
e-mail: elwira.zygielewicz@gmail.com*

Gilbert's Syndrome (GS) is a common hereditary mild unconjugated hyperbilirubinemia which occurs in 2 %-10 % of the population. Hepatic glucuronidation activity, essential for efficient biliary excretion of bilirubin, is reduced to about 30 percent of normal in patients with Gilbert's syndrome.

GS is a factor of prolonged neonatal jaundice in breast-fed infants and may precipitate jaundice when is coinherited with other disorders of haem metabolism and/or hematological anemia. Moreover, the genetic variation described as Gilbert's syndrome may lead to pharmacological variation in drug glucuronidation and unexpected toxicity from therapeutic agents.

Polymorphisms in the bilirubin uridine diphosphate glucuronosyl transferase (*UGT1A1*) gene promoter decreased the expression level of the enzyme. The accumulation of bilirubin or its conjugates in human body tissues results in jaundice, characterized by high plasma bilirubin levels and deposition of yellow bilirubin pigments in tissues, visible in the skin, the sclera of the eyes and mucous membranes. The homozygosity state for TA₍₇₎ allele of the A(TA)_(n) TAA promoter polymorphism is found in the majority of GS patients in Caucasian. Most patients had biallelic mutations of *UGT1A1* but many of them had multiple mutations. In contrast to the main *UGT1A1* promoter region, the further part is rarely tested and poorly understood. Recently investigated the influence in the susceptibility to Gilbert's syndrome -3279T-->G *UGT1A1* polymorphisms localized in the distal region of gene promoter of *UGT1A1*. This observation can explain some of GS patients with TA₇ heterozygous genotype and hyperbilirubinemia state.

The aim of the work was to summarize the state of knowledge about the structure and function of *UGT1A1* gene promoter regions and potential influence of investigated SNP changes, deposited in SNP database of NCBI. In some of interesting GS, individuals have analyzed the primary structure of a typed region of *UGT1A1* gene promoter. By designed oligonucleotides, PCR amplification and sequencing reaction were analyzed nucleotides sequence of interesting gene regions. Some of the rare cases will be presented and analyzed. The data demonstrate that genotyping of both *UGT1A1* promoter regions within A(TA)_(n) TAA and -3279T-->G polymorphisms best defines genetic susceptibility to Gilbert's syndrome in Caucasian.

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН, БІОМЕДИЦИНА HUMAN AND ANIMALS PHYSIOLOGY, BIOMEDICINE

Гнатчук І.^{1,2}, Манько В. В.¹

РЕЄСТРАЦІЯ ФІЗІОЛОГІЧНОГО ТРЕМОРУ ЛЮДЕЙ ЗА РІЗНОЇ АКТИВНОСТІ М'ЯЗІВ ВЕРХНЬОЇ КІНЦІВКИ

¹Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

²ВНКЗ ЛОР „Львівський інститут медсестринства та лабораторної медицини

ім. Андрея Крупинського”, м. Львів

e-mail: ignatchuk1986@ukr.net

Hnatchuk I., Manko V.V. THE REGISTRATION OF HUMAN PHYSIOLOGICAL TREMOR UPON VARIOUS UPPER LIMB MUSCLE ACTIVITY. Tremor is an involuntary rhythmic oscillating movement of the whole body or its parts – a result of periodic contraction and relaxation of muscles. Physiological tremor is present in every healthy person, but it not noticeable and does not cause discomfort. Considering this factor is crucial for assessment of ability to perform movements that require special accuracy and effort. Thanks to scientific and technological progress, it is now possible to detect specific parameters of tremor using neuro-physiological equipment.

Тремор – це мимовільні ритмічні коливальні рухи всього організму або окремих його частин внаслідок періодичного скорочення і розслаблення м'язів. Фізіологічний тремор присутній у кожній здорової людини, але він не візуалізується і не приносить незручностей. Проте цей фактор має вирішальне значення під час виконання рухів, які вимагають особливої точності і зусиль. Завдяки науково-технічному прогресу стала можливою реєстрація конкретних параметрів тремору за допомогою нейрофізіологічних приладів (акселерометрів, гіроскопів, електроміографів, приладів для відеореєстрації тремору). Саме тому метою роботи були реєстрація фізіологічного тремору за допомогою акселерометра MPU-6050 та аналіз змін, що виникають за різної активності м'язів кінцівки.

Проаналізовано результати досліджень 30 осіб віком 17–19 років жіночої статі. Реєстрація частоти і амплітуди тремору здійснювалась у трьох позиціях кисті: в спокої (передпліччя зафіксовано на опорній поверхні, кисть вільно звисала, не торкаючись краю опорної поверхні), в постуральному стані (кисть втримувалась у позиції проміжній між згинанням і розгинанням) та під час навантаження (на кисть у постуральному стані підвішували гири масою 100 та 200 г) відносно трьох взаємно перпендикулярних осей. Тремор, спричинений відведенням-приведенням променево-зап'ясткового суглоба, реєструвався навколо сагітальної осі (вісь x), згинанням-розгинанням променево-зап'ясткового суглоба – навколо фронтальної осі (вісь z) та тремор, зумовлений рухом в дистально-проксимальному напрямку – відносно осі y.

У спокої частота фізіологічного тремору становила: вздовж осі x – $7,47 \pm 0,32$ Гц, осі y – $7,05 \pm 0,38$ Гц, осі z – $8,32 \pm 0,35$ Гц. Внаслідок переведення кисті в постуральний стан спостерігалась тенденція до зростання частоти фізіологічного тремору. Під час навантаження кисті гирями масою 100 і 200 г зареєстровано зменшення частоти фізіологічного тремору вздовж осі z на 14,1 % та 25,5 % відповідно.

Амплітуда коливань кисті у спокої вздовж осі x становила $0,12 \pm 0,005$ см, осі y – $0,19 \pm 0,01$ см, осі z – $0,21 \pm 0,02$ см. У постуральному стані вона зросла вздовж трьох осей на 39,08 %, 42,4 % та 64,4 % відповідно. Під час навантаження гирею 100 г змін не спостерігалось, навантаження 200 г зумовило зниження амплітуди тремору вздовж осі z на 45.8 %.

У стані спокою м'язи кінцівки є розслабленими, тому вони на частоту тремору мають мінімальний вплив. Для підтримання кисті в постуральній позиції необхідно задіяти м'язи передпліччя, тому зростає частота тремору, що пояснюється залученням у роботу тих груп м'язів, які забезпечують утримання кисті в заданому стані. Зниження частоти тремору під час навантаження зумовлено збільшенням інерції кінцівки, що зменшує частоту коливань.

Отже, частота та амплітуда фізіологічного тремору відрізняються за різних функціональних станів кінцівки і залежать від ступеня навантаження кисті.

Грицюк І., Бобко Н., Чернюк В.

БІОЛОГІЧНЕ СТАРІННЯ ХІРУРГІВ В УМОВАХ ДОБОВИХ ЧЕРГУВАНЬ

ДУ «Інститут медицини праці НАМН України»

вул. Сакаганського, 75, м. Київ, 01033, Україна

e-mail: yik@namu.kiev.ua

Grytsyuk I., Bobko N., Chernyuk V. BIOLOGICAL AGING IN SURGEONS UNDER DAILY DUTIES. 65 surgeons aged 23–74 years at the daily duties with 1–37 years of experience were observed by Vojtenko's method. The accelerated biological aging for 8,8 years was revealed in surgeons. This gives the reason to qualify the examined surgeons as a professional group of risk for the disease development, disability and death evidencing the necessity of the prophylactic measures.

Робоче навантаження хірургів в умовах добових чергувань вимагає підтримки постійної готовності до дії при високій відповідальності за здоров'я пацієнтів, що знаходяться в найбільш критичних станах.

Мета роботи – виявити особливості біологічного старіння лікарів хірургічних спеціальностей, що працюють за графіком добових чергувань.

Темп та особливості біологічного старіння хірургів вивчалися за допомогою методики В.П.Войтенко з використанням фізіологічних (вимірювання артеріального тиску, пульсу, тривалості затримки дихання на вдиху, статичного балансування), психологічних (опитувальник), математико-статистичних (варіаційна статистика, кореляційний аналіз за Пірсоном, достовірність за Стьюдентом на рівні $p < 0,05$) методів. Дослідження проведені на початку 24-годинного чергування (8:00–8:00) на робочих місцях у 65 хірургів 23–74 років з загальним стажем роботи 1–56 років, зі стажем роботи за професією – 1–43 роки, за графіком добових чергувань – 1–37 років, які працювали за графіком: чергування – 24 години, відпочинок – 72 години.

Темп біологічного старіння обстежених хірургів випереджав такий їх однолітків на $8,78 \pm 0,83$ років, що відповідає верхній межі прискореного темпу старіння. При цьому, у 3 % лікарів виявлено уповільнений темп старіння, у 18 % – середньопопуляційний, у 31 % – прискорений, у 48 % – різко прискорений темп старіння. Артеріальний тиск і пульс у хірургів за середньогруповими даними знаходилися в межах фізіологічної норми (132 ± 2 , 82 ± 1 мм рт. ст., 75 ± 2 уд./хв.). Близько 60 % обстежених скаржились на болі в попереку, втрату сну через хвилювання, погіршення зору, близько 50 % – на головні болі і метеозалежність, близько 40 % – на болі в суглобах, набряки на ногах, в'ялість шкіри, труднощі з концентрацією, забудькуватість, зниження працездатності, задишку, поганий сон. Серед перших п'яти скарг, що зустрічались найбільш часто – скарги на болі в попереку і зниження зору найбільш виражено статистично достовірно були пов'язані зі збільшенням віку і показників стажу роботи лікарів ($r = 0,33...0,45$, $p < 0,05$). Скарги на болі в області серця були достовірно пов'язані зі збільшенням загального стажу роботи, на набряки ніг – зі збільшенням стажу роботи в професії хірурга ($r = 0,25$, $p < 0,05$).

Виявлений темп біологічного старіння обстежених хірургів перевищує такий у представників інших професійних груп змінної праці з високим нервово-емоційним напружен-

ням (за даними літератури: у диспетчерів енергосистем, що розподіляють електроенергію по мережах – 5 років, у водіїв вантажних автомобілів далекого прямування – 3,4 роки). Прискорене біологічне старіння хірургів в умовах добових чергувань на 8,8 років, згідно даних Інституту геронтології, дає підстави кваліфікувати обстежених як професійну групу ризику виникнення захворювань, втрати працездатності та смерті, що засвідчує необхідність застосування профілактичних заходів.

Дика Г.¹, Фінюк Н.², Бичкова С.¹, Бабський А.¹

**ЦИТОТОКСИЧНИЙ ВПЛИВ ПОХІДНИХ 1,2,3-ТІАЗОЛУ
НА ПУХЛИННІ КЛІТИНИ ЗА УМОВ *IN VITRO***

¹Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

²Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна

e-mail: galya.dyka@gmail.com

Dyka H., Finiuk N., Bychkova S., Babsky A. CYTOTOXIC ACTIVITY OF 1,2,3-THIAZOLES DERIVATIVES AGAINST TUMOR CELLS *IN VITRO*. Development and investigation of effective and available anticancer drugs is the actual problem of oncology, modern pharmacology, and molecular biology. The cytotoxic effects of 1,2,3-thiazoles derivatives have been investigated. Two newly synthesized heterocyclic chemicals (ID 053301 and ID 27971) possessed significant anti-tumor activity against leukemia and glioblastoma cells.

На сьогоднішній день онкологічні захворювання займають друге місце за смертністю у світі. В Україні щороку 160 тис. осіб хворіють на онкологічні захворювання, з яких помирає 100 тис. Разом з цим зростає кількість випадків резистентності пухлин до класичного лікування. На сьогодні ефективність лікування злоякісних новоутворень становить переважно не більше 50 %. Значною мірою така низька ефективність обумовлена неспецифічністю дії протипухлинних препаратів, резистентністю різних пухлин до них та пошкоджуючою дією препаратів на нормальні клітини. Тому на цей момент актуальною проблемою є пошук ефективних доступних препаратів із низькою загальною токсичністю, які долають цю резистентність. Тіазоли і їх похідні мають велике значення в медичній хімії і можуть бути використані для синтезу численних гетероциклічних сполук з такими біологічними активностями, як протипухлинна, протівірусна, антибактеріальна та протигрибкова.

У досліджах використовували клітини лінії U251 гліобластоми людини, K562 мієлоїдної лейкемії людини та Jurkat Т-лейкозу людини. Клітини культивували в середовищі DMEM або RPMI із додаванням 10 %-ї сироватки крові ембріонів великої рогатої худоби. Для оцінки впливу похідних 1,2,3-тіазолу, а саме сполук ID 053301, ID 14826, ID 20345, ID 27971, ID 16956 (синтезовані в рамках угоди-співпраці з кафедрою органічної хімії ЛНУ ім. Івана Франка) на життєздатність клітинних ліній проводили тестування з використанням реагента МТТ.

Встановлено, що сполука ID 053301 має високу токсичність щодо клітин лінії K562 мієлоїдної лейкемії ($IC_{50} = 15,7$ мкМ), її цитотоксичний ефект рівновеликий дії відомого протипухлинного препарату доксорубіцину. Похідна 1,2,3-тіазолу ID 27971 є найбільш токсичною щодо клітин гліобластоми людини лінії U251 ($IC_{50} = 9,8$ мкМ). Слід зазначити, що IC_{50} для темозоломід – лікарського препарату, який використовують при лікуванні гліом – становив 247 мкМ. Речовини ID 14826, ID 16956, ID 20345 не проявили вираженої токсичності щодо клітин ліній U251 гліобластоми людини, K562 мієлоїдної лейкемії та клітин лінії Jurkat Т-лейкозу людини у концентрації до 50 мкМ. Отже, досліджувані речовини

можуть стати перспективними протипухлинними препаратами. Усі досліджувані похідні 1,2,3-тіазолу не мали вираженого токсичного ефекту щодо псевдонормальних клітин.

Одержані нами дані свідчать про те, що принаймні дві із досліджуваних нами речовин (ID 053301 та ID 27971) мають виражену токсичність щодо клітин лейкозного та гліомного походження.

Злобенко І., Линчак О.

СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ ГОСТРОГО КОЛІТУ

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, 01601, Україна
e-mail: ivankaz@bigmir.net*

Zlobenko I., Lynchak O. THE RAT LIVER STATE UNDER ACUTE COLITIS INDUCTION. Under the induction of experimental acute ulcerative colitis in rats by administration of acetic acid changes occur not only in the large intestine, but also in rat liver. There are signs of *inflammatory* process in the *liver*, changes in the bloodstream, fine-grained *fatty* dystrophy of *hepatocytes*. At the same time, compensatory processes take place.

За частотою виникнення, важкістю перебігу, інвалідизацією та кількістю ускладнень коліт займає одне з провідних місць серед хворіб шлунково-кишкового тракту. Серед ускладнень найпоширенішими є інтоксикація та дегідратація організму. До того ж, коліт вважають передраковим станом, адже він підвищує ризик виникнення колоректального раку.

Коліт, незалежно від його форми, важко піддається лікуванню. І хоча сучасні прогресивні методи полегшують лікування коліту, але це лікування є тривалим, препарати мають численні побічні ефекти і не завжди забезпечують поліпшення стану кишечника. Тому лікування коліту вимагає пошуку ефективніших та безпечніших методів.

Для перевірки нових потенційних лікарських засобів, а також дослідження механізмів розвитку патологічних станів та методів їх неокорекції використовують різні експериментальні моделі з використанням лабораторних тварин. Оскільки під час моделювання різних видів патологій впливу зазнає не лише орган-мішень, а й інші органи, то метою нашої роботи стало вивчення морфо-функціонального стану печінки, як основного органу детоксикації, за моделювання виразкового коліту.

Дослідження проводили на 30 статевозрілих щурах-самцях породи Wistar вагою 180–250 г. Щурів було розділено на 2 експериментальні групи. Коліт моделювали шляхом ректального введення 0,5 мл 10 % оцтової кислоти. Щурів виводили з експерименту на 4 добу після індукції коліту. Зразки тканин печінки фіксували у розчині Буена, піддавали стандартній гістологічній обробці. Виготовлені парафінові зрізи забарвлювали гематоксиліном з дофарбуванням еозином. Препарати аналізували на світлооптичному рівні, вимірювання морфометричних показників проводили за допомогою програми WCIF ImageJ 1.47v. на виготовлених мікрофотографіях, обробку статистичних даних – в програмі Excel 15.18. Достовірність різниць середніх значень визначали за критерієм Стюдента.

Під час моделювання виразкового коліту печінка зазнає певних структурних змін. Гепатоцити централобулярної та перипортальної зони печінкової часточки зберігають свою форму, є чітко окреслені, містять округле ядро, що розташоване по центру, з декількома ядерцями. Проте збільшується зернистість цитоплазми у порівнянні з контрольною групою, вміст цитоплазми поодиноких клітин зміщений до ядра клітин. Виявляються місця в перипортальних зонах, де відбувається заміщення гепатоцитів сполучною тканиною. Наявне запалення у перипортальних трактах, розширення судин та стаз крові у них, потовщення ендотелію судин. Синусоїдні гемокапіляри розширені, кровонаповненні.

У деяких централобулярних зонах ендотелій центральних вен також потовщений. Спостерігається зменшення площі поперечного перерізу гепатоцитів централобулярної зони та зростання кількості клітин з поліплоїдним ядром, що свідчить про підвищений рівень клітинної проліферації.

Отже, моделювання гострого виразкового коліту спричиняє зміни не лише у товстому кишечнику, а й у печінці шурів: наявні ознаки запалення в обох зонах печінкової часточки, зміни у кровоносному руслі, дрібнозерниста жирова дистрофія гепатоцитів, паралельно з цим відбуваються компенсаторні процеси.

Івасишин В., Бутенко Н., Лилик М.

**СУМІСНИЙ ВПЛИВ АЛЬФА-КЕТОГЛУТАРАТУ ТА ІОНІВ АЛЮМІНІЮ
НА СТІЙКІСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ДО РІЗНИХ ЧИННИКІВ**

ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника»

вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76018, Україна

e-mail: nika141@i.ua

Ivasyshyn V., Butenko N., Lylyk M. COMBINED INFLUENCE OF ALPHA-KETO-GLUTARATE AND ALUMINUM IONS ON RESISTANCE OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* TO DIFFERENT STRESSORS. Dietary alpha-ketoglutarate (AKG) attenuated toxic effects of aluminum chloride on development of *D. melanogaster* w^{1118} larvae. Two-day-old adult flies reared on aluminum chloride only or in combination with AKG had higher climbing activity than control ones. Flies grown on aluminum chloride plus AKG were more resistant to cold and heat stresses and oxidative stress induced by menadione than flies grown on control medium and medium supplemented with aluminum chloride only.

Дослідження останніх років доводять, що хронічний вплив іонів алюмінію може призводити до інтоксикації організму людини. Одним з механізмів токсичності алюмінію є розвиток оксидативного стресу. З іншого боку, відомо, що альфа-кетоглутарат (АКГ), важливий інтермедіат циклу Кребса, може діяти як антиоксидант та послаблювати токсичність низки ксенобіотиків. Тому ми припустили, що дана сполука може модулювати токсичну дію алюмінію на *Drosophila melanogaster*, яка широко використовується як модель для вивчення багатьох аспектів біології вищих еукаріотів.

Особин *D. melanogaster* лінії w^{1118} вирощували на дріжджово-сахарозному середовищі, яке містило додатково 10 мМ АКГ, 10 мМ $AlCl_3$, а також суміш 10 мМ АКГ і 10 мМ $AlCl_3$. Швидкість заляльковування на дослідних середовищах оцінювали щоденно за кількістю утворених лялечок. У дводенних дорослих мух визначали індуковану рухову активність, стійкість до теплового та холодового стресів, стійкість до пероксиду водню та менадіону.

Додавання АКГ до середовища, яке містило $AlCl_3$, послаблювало токсичний вплив алюмінію на розвиток мух, що проявлялося у пришвидшенні лялькування та збільшенні загальної кількості утворених лялечок. Встановлено, що дводенні самці, вирощені на середовищі з $AlCl_3$, АКГ та АКГ + $AlCl_3$ мали вищу рухову активність, ніж контрольні особини. Серед самок рухова активність була найвищою у групі, вирощеній на середовищі із додаванням АКГ. Також самки, які споживали $AlCl_3$ та АКГ + $AlCl_3$ також мали вищу рухову активність, ніж контрольні мухи. У теплову кому при 41 °C усі три дослідні групи (АКГ, $AlCl_3$ та АКГ + $AlCl_3$) впадали повільніше, ніж контролі особини. За швидкістю виходу з холодової коми (1 год при 0 °C), групи мух можна розмістити у такому порядку: контроль < АКГ < АКГ + $AlCl_3$ < $AlCl_3$. Це може вказувати на наявність перехресних адаптацій. У стійкості до 5 % H_2O_2 відмінностей між досліджуваними групами не виявлено. Водночас, дводенні мухи, вирощені на середовищі з 10 мМ АКГ, були найстійкішими до 20 мМ менадіону, ніж інші дослідні групи. Найменш стійкими були мухи, які споживали 10 мМ $AlCl_3$. Це може вказувати на індукцію оксидативного стресу алюмінієм.

У підсумку, отримані результати свідчать про те, що додавання до живильного середовища альфа-кетоглутарату частково послаблює токсичний вплив алюмінію на розвиток личинок *D. melanogaster*. Дорослі мухи, які вилупилися на середовищі з алюмінієм, проявляють вищу стійкість до холодового та теплового стресу, але є більш чутливими до оксидативного стресу, ніж контрольні особини. Останнє може бути зумовлене індукцією оксидативного стресу за впливу алюмінію. Альфа-кетоглутарат модулює ефекти алюмінію на стійкість плодової мушки до стресів.

Ігнатченко П., Римар С., Бучек П., Шувалова Н.

**КЛІТИННА ТЕРАПІЯ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ШЛЯХОМ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ
МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОVBУРОВИХ КЛІТИН ПУПОВИНИ ЛЮДИНИ**

*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул. Академіка Заболотного, 150, м. Київ, 03680, Україна
e-mail: polli517@i.ua*

Ignatchenko P., Rymar S., Buchek P., Shuvalova N. CELL THERAPY OF LIVER DISEASE IN RATS BY USING MESENCHYMAL STEM CELLS FROM HUMAN UMBILICAL CORD. Mesenchymal stem cells (MSCs), represent an attractive tool for the establishment of a successful stem-cell-based therapy of liver diseases. We aimed to evaluate the therapeutic potential of mesenchymal stem cells from human umbilical cord, a readily available source of mesenchymal stem cells, in the CCl_4 -induced liver injury model.

Останнім часом клітинна терапія розглядається як найперспективніший підхід до регенерації органів людини і можливості лікування тяжких захворювань. Використання для цих цілей мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) визнане найбільш безпечним та перспективним. До недавнього часу, єдиним шляхом лікування цирозу була трансплантація печінки. На сьогодні у світі в якості альтернативи трансплантації печінки пропонується клітинна терапія, яка приводить до відновлення функції органу шляхом введення МСК. Ключова роль МСК під час розвитку фіброзу та її кінцевої стадії – цирозу печінки полягає у інгібуючій дії на проліферативну та фіброгенну функцію активованих стелатних клітин, що супроводжується значним зменшенням позаклітинного матриксу в тканині печінки. Метою даної роботи було вивчити регенераційну здатність печінки щурів після трансплантації МСК пуповини людини щодо корекції токсичного ураження органу, індукованого CCl_4 .

Досліди виконані на 20 щурах-самцях лінії Wistar, які перебували в уніфікованих умовах. Перший етап роботи – одержання моделі ураження печінки у лабораторних щурів. Ураження печінки було розвинуто шляхом інтраперитонеальних ін'єкцій розчину CCl_4 в оливковій олії (1:1) згідно схеми введення. Через 12–14 тижнів введення тваринам CCl_4 у хвостову вену щурам експериментальної групи вводили МСК пуповини людини $1\text{--}2 \times 10^6$ пасаж і у кількості $6\text{--}7 \times 10^6$ кл/кг маси тіла. Відбір матеріалу для дослідження проводився приблизно кожні 2 тижні шляхом часткової гепатектомії на протязі 27 тижнів. Кінцевий вивід тварин з експерименту здійснювався за допомогою декапітації з подальшим видаленням печінки. Роботу проводили з дотриманням принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей». Про розвиток ураження печінки (фіброз, цироз) та її відновлення після трансплантації МСК свідчать дані гістології, їхній морфометричний аналіз та зміна в експресії деяких генів.

Одним із основних показників розвитку фіброзу печінки є накопичення позаклітинного матриксу. Після 14-тижневої інтоксикації CCl_4 було виявлено збільшення ЕЦМ у 6 разів в порівнянні з нормою. Всі інші морфометричні показники також були

змінені порівнюючи з нормою. Після трансплантації МСК через 13 тижнів накопичення колагену зменшилося у 4,7 разів порівняно з контролем, відбулося поступове відновлення архітекtonіки печінки, що було підтверджено за допомогою інших морфометричних показників та гістологічної візуалізації.

Відомо, що ураження печінки супроводжується кардинальними змінами в експресії великої кількості генів, тому було вивчено зміни в експресії таких генів: епідермальний фактор росту (EGF) та гліальний фібрилярний кислий білок (GFAP). Було показано, що ген EGF практично не експресується в нормі, а після 6-го тижня індукції рівень його експресії різко зростає, порівнюючи з нормою. Також зростає рівень експресії GFAP, який є маркером міофібробластів. Після введення МСК пуповини людини ми спостерігали вже на 2-му тижні різке зменшення експресії EGF та GFAP в порівнянні з контрольною групою тварин.

Отже, в результаті проведення експерименту був продемонстрований терапевтичний ефект трансплантації МСК щодо відновлення тканини печінки та її архітекtonіки.

Ковальська С., Бичкова С.

**ВПЛИВ НІКОТИНАЦИДАДЕНІДИНУКЛЕОТИДФОСФАТУ
В РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЯХ НА АТФ-АЗНУ АКТИВНІСТЬ
СУБКЛІТИННОЇ ФРАКЦІЇ ЛІМФОМИ МИШЕЙ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: s.bychkova@gmail.com*

Kovalska S., Bychkova S. INFLUENCE OF DIFFERENT CONCENTRATION OF NAADP ON ATPase ACTIVITY OF MICE LYMPHOMA SUBCELLULAR FRACTION. Nicotonic acid adenine dinucleotide phosphate (NAADP) have been shown to release Ca^{2+} from acidic stores. The aim of our study was to investigate the influence of different concentration of NAADP on ATPase activity in lymphoma. We found that NAADP in concentration 0.1 μM and 1 μM suppressed the activity of Na^+ , K^+ -ATPase and increased its activity at concentration 7 μM . At the same time NAADP caused an increase of the Ca^{2+} -ATPase of plasma membrane.

Відомо, що нікотинацидаденідинуклеотидфосфат (НААДФ) є вторинним месенджером вивільнення Ca^{2+} із кислих депо клітин. При цьому припускають, що він може впливати на двопорові канали (TRPC2) цих органодів. Було показано зв'язки між TRPC2 і розвитком раку, а також важливість ролі НААДФ-регульованої Ca^{2+} -сигналізації і TRPC2 під час ангиогенезу. Метою роботи було дослідити вплив НААДФ у різних концентраціях на АТФ-азну активність субклітинної фракції лімфоми. Досліди проводили на штамі мишачої лімфоми NK/Ly. Субклітинну фракцію отримували методом диференційного центрифугування. АТФ-азну активність оцінювали за вмістом неорганічного фосфору за методом Фіске-Суббароу.

Встановлено, що активність Ca^{2+} -АТФ-ази плазматичної мембрани (ПМ) зростає статистично достовірно за усіх концентрацій НААДФ (0,1 мкМ, 1 мкМ і 7 мкМ). Отже, вивільнений за дії НААДФ кальцій безпосередньо стимулює Ca^{2+} -помпи ПМ, що може свідчити про тісну локалізацію рецепторів НААДФ та Ca^{2+} -АТФ-аз у субклітинній фракції лімфоми NK/Ly. Разом з тим впливу НААДФ на активність Ca^{2+} -АТФ-ази ендоплазматичного ретикулуму (ЕПР) не виявлено, що вказує або на слабку експресію цього білка у мишачій лімфомі, або на відокремленість ЕПР та НААДФ-чутливого депо за умов експерименту. Встановлено статистично достовірне зниження активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази за дії НААДФ у низьких концентраціях (0,1 мкМ і 1 мкМ), а за вищої концентрації НААДФ (7 мкМ) спостерігалось підвищення активності цього ферменту. Ці ефекти ми

пов'язуємо із зміною рН за дії НААДФ. Статистично достовірних змін активності базальної Mg-АТФази за дії НААДФ не виявлено.

Отже, ми встановили, що НААДФ у субклітинній фракції лімфоми НК/Лу, впершу чергу активує АТФ-ази ПМ (Ca^{2+} -помпу та Na^+ , K^+ -АТФ-азу) та не впливає на помпи ЕПР. Ми припускаємо тісну локалізацію НААДФ-чутливого депо з ПМ у клітинах лімфоми НК/Лу.

Коржик О., Моренко А.

ПОВ'ЯЗАНА З ПОДІЄЮ ДЕСИНХРОНІЗАЦІЯ / СИНХРОНІЗАЦІЯ
ЕЛЕКТРОЕНЦЕФАЛОГРАМИ У ЧОЛОВІКІВ
ПІД ЧАС МАНУАЛЬНОГО РЕАГУВАННЯ

*Східноєвропейський національний університет імені Лесі Українки
просп. Волі, 13, м. Луцьк, 43025, Україна
e-mail: olga.korgik@gmail.com*

Korzhuk O., Morenko A. EVENT-RELATED DESYNCHRONIZATION/ SYNCHRONIZATION OF THE ELECTROENCEPHALOGRAM IN MEN DURING MANUAL REACTION. The changes of the EEG spectral power in the frequency range from 8 to 22 Hz in the frontal, central and parietal areas of the brain were studied. Process of manual reaction on the sound signal in men was accompanied by EEG event-related desynchronization in the frequency range of 8-11 Hz (2-3 s) and 19-22 Hz (in the front areas on 3 seconds after the signal, in the central and parietal on 1-2 s) and also event-related synchronization – in $\beta 1$ -range on 1-2 s.

Наукова спільнота [Pfurtscheller, 2001; Neuper та ін., 2006; Асланян та ін., 2014; Василенко, 2013; Таротін та ін., 2014; Моренко, 2014, 2015] приділяє все більшу увагу проблемі особливостей мозкових процесів, які забезпечують моторне програмування мануальних рухів людини. Однак конкретні відомості про ці процеси в корі мозку поки що досить обмежені. Не виключено, що існують певні показники роботи головного мозку, які корелюють із мануальною моторикою. В нашому обстеженні взяли участь 25 здорових чоловіків-добровольців віком 18–22 років. Усі мали правий профіль мануальної асиметрії. ЕЕГ реєстрували за допомогою апаратно-програмного комплексу «Нейроком» (НТЦ «ХАІ-Медика»). Під час запису обстежувані знаходилися у світло- і звукоізолюванні кімнаті, в положенні сидячи, із заплющеними очима. Реєстрацію електроенцефалограми (ЕЕГ) здійснювали монополярно, активні електроди розміщували за міжнародною системою 10/20 у 19 точках на скальпі голови. В якості референтних використовували вушні електроди А1 і А2, а також додатково N (nasion) і Ref. Оцінювали пов'язані з подією десинхронізацію (event-related desynchronization, ERD) і синхронізацію (event-related synchronization, ERS) спектральної потужності (СП) ЕЕГ в частотному діапазоні від 8 до 22 Гц у фронтальних (F3, F4), центральних (C3, C4) і тім'яних (P3, P4) відведеннях. Показники ERD і ERS оцінювали на визначених інтервалах до подачі стимулу (референтний інтервал, 2 с) і після подачі стимулу (тестовий інтервал, 3 с). Як стимул слугував звуковий сигнал низької частоти (600 Гц), у відповідь на пред'явлення котрого обстежувані натискали вказівним пальцем правої руки на кнопку пульта. Розрахунок значень ERD/ERS проводили згідно загальноприйнятої формули [Pfurtscheller, 1999] як різницю між спектральними потужностями ЕЕГ на референтному і тестовому інтервалах в середовищі Matlab.

За таких експериментальних умов під час тестового інтервалу у фронтальних відведеннях на частоті 9–11 Гц спостерігали десинхронізацію СП (2–3 с після подачі звукового сигналу), тоді як явища синхронізації СП були характерні для частотного діапазону 12–18 Гц (1–2 с). Цікавим виявився факт десинхронізації в діапазоні 19–22 Гц у лівій фронтальній ділянці (3 с). В центральних відведеннях десинхронізацію відзначали на

частоті 9 Гц на 2 с, для відведення СЗ процес десинхронізації був тривалішим. На частоті 13 Гц у відведенні СЗ фіксували ERD на 1 с. Синхронізацію СП у центральних ділянках встановили у діапазоні 14–17 Гц (1–2 с). На противагу у діапазоні 19–21 Гц спостерігали десинхронізацію СП (1–2 с). У тим'яних відведеннях фіксували десинхронізацію СП у частотному інтервалі 8–9 Гц на 2–3 секунді. Реакцію десинхронізації також реєстрували у відведенні Р4 на частоті 11 Гц. На спектрограмі також простежували синхронізацію СП у частотному діапазоні 12–18 Гц, здебільшого на 1–2 с. На частоті 20 Гц (1–2 с) десинхронізацію СП. Таким чином, у чоловіків здійснення рухового реагування на звуковий сигнал супроводжувалося явищами десинхронізації СП в частотному діапазоні 8–11 Гц (2–3 с) і 19–22 Гц (у фронтальних ділянках на 3 секунді після сигналу, у центральних і тим'яних на 1–2 с), а також викликаній синхронізації – у β 1-діапазоні на 1–2 с.

Корнієнко В., Корбуш М., Акуленко І., Паустовська А., Сергійчук Т., Толстанова Г.

**КІЛЬКІСНИЙ РІВЕНЬ ОКСАЛАТДЕГРАДУЮЧИХ БАКТЕРІЙ
У ФЕКАЛЬНОМУ БІОПТАТІ ХВОРИХ НА РЕЦИДИВУЮЧИЙ ПІСЛОНЕФРИТ
ТА ДОБІР ШТАМІВ З ОКСАЛАТДЕГРАДУЮЧОЮ АКТИВНІСТЮ**

*ННЦ «Інститут біології та медицини» КНУ ім. Тараса Шевченка
просп. Академіка Глушкова, 2, м. Київ, 03022, Україна
e-mail: vladka121@gmail.com*

Korniienko V., Korbush M., Akulenko I., Paustovska A., Serhiychuk T., Tolstanova

A. QUANTITATIVE LEVEL OF OXALATE DEGRADING BACTERIA IN THE FECAL BIOPTATE OF PATIENTS WITH RECURRENT PYELONEPHRITIS AND SELECTION OF STRAINS WITH OXALATE DEGRADING ACTIVITY. The infusion of probiotic preparations with expressed oxalate degrading activity for the treatment of patients with hyperoxaluria can prevent the formation of calcium oxalate concretions. There is the direct relationship between the period after discontinuation of antibiotic therapy and reduction of ODB that can lead to hyperoxaluria.

Пієлонефрит – інфекційно-запальний процес у чашково-мисковій системі нирки. Основним способом лікування цього інфекційного захворювання є антибіотикотерапія. Застосування антибактеріальних препаратів призводить до зниження рівня облигатно-анаеробних цукролітичних бактерій, які відіграють основну роль у метаболізмі оксалату, що, в свою чергу, призводить до розвитку гіпероксалурії. Ми припускаємо, що введення до схем терапії хворих з гіпероксалурією пробіотичних препаратів з вираженою оксалатдеградуючою активністю може запобігти розвитку утворення оксалатно-кальцієвих конкрементів.

Метою роботи було визначити частоту висівання оксалатдеградуючих бактерій (ОДБ) у фекаліях хворих на рецидивуючий пієлонефрит та здійснити добір штамів з вираженими оксалатдеградуючими властивостями.

Об'єктом дослідження була оксалатдеградувальна мікробіота фекальних екскрементів 12 хворих з рецидивуючим пієлонефритом. 0,1 мл 10-кратних розведень фекального біоптату висівали на високо селективне середовище, яке як єдине джерело карбону містило оксалат натрію (NaOx) (5 г/л). Середовище з засіяним матеріалом культивували за анаеробних умов і температури 37 °C впродовж 10 діб. Оксалатдеградуючу активність 5-ти штамів бактерій роду *Lactobacillus* (Українська колекція мікроорганізмів) досліджували за допомогою методу флуоресцентної спектрометрії. Штами бактерій культивували в поживному середовищі з додавання 20 мг/л NaOx.

Виявили, що кількість ОДБ у хворих з рецидивуючим пієлонефритом залежала від терміну після антибіотикотерапії. Одразу після закінчення курсу антибіотикотерапії ОДБ

висівались у 61 % пацієнтів у кількості $lg\ 2,0-7,0$ КУО/г фекалій, через місяць після відміни антибіотиків – у 39 % у кількості $2,0-5,0$ КУО/г. Через 3 місяці після відміни антибіотиків ОДБ не висівались у жодного пацієнта.

Оксалатдеградуюча активність 5 штамів бактерій роду *Lactobacillus* коливалась в межах 6–24 %. Найбільш активним деструктором виявився штам *Lactobacillus plantarum* В-7066 (УКМ), який метаболізував 24 % ОхНа в поживному середовищі.

Отже, ми виявили пряму залежність між терміном після відміни антибактеріальної терапії та зниженням вмісту ОДБ, що може призвести до розвитку гіпероксалурії та появи рецидивів у пацієнтів з пієлонефритом. Метод флуоресцентної спектрометрії є ефективним для визначення активності деградації оксалату у культуральному середовищі і може бути використаний для подальшого добору штамів з високою оксалатдеградуючою активністю.

Костів М., Вивірка М., Стецик Х., Король Т.

**ПОКАЗНИКИ КИСЛОТНОГО ГЕМОЛІЗУ ЕРИТРОЦИТІВ
АЛКОГОЛІЗОВАНИХ ЩУРІВ ЗА ДІЇ ТАУРИНУ**

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: mysakostiv21@gmail.com

Kostiv M., Vyvirka M., Stetsik Kh., Korol T. Measurement of the erythrocytes resistance to acid allows evaluating effect of taurine on cell membranes of intact and alcohol fed rats. We have shown a significant increase of both the hemolysis time and the number of highly resistant to HCl cells under the action of ethanol. Taurine at a concentration of 0.45 mM causes substantial increase of the number of erythrocytes with low acid resistance only in alcohol fed rats.

Дослідження одночасної дії етанолу і таурину на функціональні показники органів і тканин розпочато порівняно недавно, а тому одержання нових експериментальних даних дозволить зрозуміти механізм їх впливу та попередити негативні для організму наслідки. Критерієм для оцінки стану клітинних мембран за дії різних чинників є показники гемолізу еритроцитів. Тому мета нашої роботи полягала у дослідженні впливу таурину на кислотну резистентність еритроцитів щурів за їх хронічної алкоголізації.

Дослідження проводили на суспензії еритроцитів крові білих щурів-самців лінії Wistar m = 250–320 г. Алкоголізацію щурів здійснювали шляхом введення 40 % розчину етанолу з розрахунку 6 г чистого спирту на 1 кг маси тіла упродовж 14 діб. Після декапітації тварин з одержаної крові готували 1 % суспензію еритроцитів. Суспензію клітин інкубували упродовж 30 хв при $t\ 37\ ^\circ\text{C}$ у середовищі, яке містило таурин у концентрації 0,45 ммоль/л. Дослідження кислотної резистентності еритроцитів проводили за методом Гітельсона і Терскова (1957). Кінетику гемолізу еритроцитів реєстрували за допомогою фотоелектроколориметра КФК-3 при довжині хвилі 650 нм.

Час повного гемолізу еритроцитів інтактних щурів у середньому становив $8,70 \pm 1,74$ хв у безтауриновому та $9,60 \pm 1,85$ хв у тауринвмісному середовищах інкубації відповідно. Час повного гемолізу еритроцитів алкоголізованих щурів становив $9,40 \pm 1,95$ хв та зростав у 1,37 разів ($P < 0,05$, $n = 5$) за наявності таурину у середовищі інкубації.

Після інкубації еритроцитів інтактних щурів у безтауриновому середовищі час досягнення максимуму гемолізу становив $6,9 \pm 1,04$ хв та практично не відрізнявся від цього показника за дії таурину. Аналогічно не зазнав суттєвих змін час максимального гемолізу еритроцитів алкоголізованих щурів за дії таурину.

Під впливом таурину у концентрації 0,45 ммоль/л максимальний відсоток гемолізу еритроцитів алкоголізованих щурів зменшився у 1,42 разів ($P < 0,05$, $n = 5$) порівняно з еритроцитами інтактних тварин та у 1,30 разів ($P < 0,05$, $n = 5$) відносно еритроцитів алкоголізованих щурів за відсутності таурину у середовищі інкубації.

Аналіз розподілу еритроцитів на групи за стійкістю до дії хлоридної кислоти свідчить, що найбільшу кількість еритроцитів із підвищеною стійкістю (час гемолізу 5,0–7,5 хв) спостерігали за хронічної дії етанолу на організм щурів. Одержаний показник у 1,32 разів ($P < 0,05$, $n = 5$) був вищим, ніж в інтактних тварин. За дії таурину на еритроцити алкоголізованих щурів спостерігали найбільший відсоток низькостійких еритроцитів (час гемолізу $\leq 1,5$ хв) та еритроцитів із зниженою стійкістю (час гемолізу 1,5–3,0 хв).

Отже, виявлені нами особливості кислотної резистентності еритроцитів алкоголізованих щурів, очевидно, пов'язані із структурно-функціональними змінами клітинних мембран за хронічного впливу етанолу. За умов додавання таурину до середовища інкубації кількість еритроцитів із зниженою кислотною резистентністю зростала лише в алкоголізованих щурів.

Костіна І., Копиця М., Титаренко Н., Петеньова Л., Опарін О.

МОЗКОВИЙ НАТРІЙУРЕТИЧНИЙ ПЕПТИД В ОЦІНЦІ РИЗИКУ ЛЕТАЛЬНОГО РЕЗУЛЬТАТУ У ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ КОРОНАРНИЙ СИНДРОМ

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

площа Незалежності, 4, м. Харків, 61022, Україна

e-mail: info@karazin.ua

ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України»

пр. Л. Малої, 2А, м. Харків, 61039, Україна

e-mail: info@therapy.gov.ua

Kostina I., Kopytsya M., Tytarenko N., Peten'ova L., Oparin O. BRAIN NATRIURETIC PEPTIDE IN RISK ASSESSMENT OF LETHAL RESULT IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME. The purpose of this study is to define the use of the measurement of N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT pro-BNP) and other clinical and biochemical markers to predict lethal result for 6 month-follow-up in patients with acute coronary syndrome. A multimarker approach that included levels of NT-proBNP, hemoglobin levels, heart rate at admission and discriminant equation provides information in terms of acute coronary syndrome prognosis at 6 month, with a worse outcome for patients for which the discriminant equation has negative value.

Тепер у світі спостерігається підвищений інтерес до оптимізації шкал стратифікації ризику хворих на гострий коронарний синдром (ГКС) у зв'язку з високою смертністю за цього захворювання. Метою нашого дослідження було вивчення прогностичної цінності біохімічних і клінічних маркерів розвитку летального результату через півроку після перенесеного ГКС.

Обстежено 57 пацієнтів з ГКС, – 42 чоловіки і 15 жінок, які надійшли в першу добу захворювання; середній вік $62,5 \pm 4,7$ р. За даними клінічної картини, змін на ЕКГ і рівня тропоніну I серед пацієнтів з ГКС у 17 пацієнтів була діагностована нестабільна стенокардія (НС), у 13 пацієнтів – інфаркт міокарда без зубця Q (не-Q-ІМ), у 27 пацієнта – інфаркт міокарда з зубцем Q (Q-ІМ). Окрім рутинних клініко-біохімічних маркерів, визначали Н-кінцевий фрагмент мозкового натрійуретичного пептиду (НТпроМНП) в сироватці крові імуноферментним методом за допомогою реактивів фірми «Вектор Бест», Новосибірськ. Вивчено розвиток летального результату через півроку від початку розвитку захворювання. Статистична обробка проводилася за допомогою програми Statistica 6,0 і MedCalc.

Після аналізу близько 60 клініко-біохімічних показників при порівнянні груп хворих, що вижили та померли, виявилось, що в них достовірно відрізнялися наступні показники: вік пацієнтів, частота серцевих скорочень (ЧСС) при надходженні до стаціонару, рівні

НТпроМНП та гемоглобіну у першу добу ГКС. У зв'язку з недостатньою чутливістю і специфічністю вищезазначених показників у представленій виборці хворих була зроблена спроба створити математичну модель з метою поліпшення чутливості та специфічності прогнозу загальної смертності. Покроковий дискримінантний аналіз відсіяв, як незначний, вплив віку на летальний результат. Дискримінантне рівняння має наступний вигляд:

«Вихід» = $0,132 \times \text{Hb} - 0,124 \times \text{ЧСС} - 0,003 \times \text{НТпроМНП} - 2,508$. При негативному значенні змінної «Вихід» з імовірністю 70 % прогнозується летальний результат. У випадку значення змінної більше нуля припускають виживання пацієнта з імовірністю 96 %.

Запропонована модель з урахуванням рівнів НТпроМНП в першу добу, гемоглобіну та ЧСС дозволяє прогнозувати летальний результат у пацієнтів з ГКС протягом 6 місяців з чутливістю 70 % і специфічністю 96 %.

Котик Б., Сідорова О., Манько Б. О., Манько В. В.

**РОЛЬ ГЛУТАМІНУ І ПІРУВАТУ У ЗАБЕЗПЕЧЕННІ МІТОХОНДРІАЛЬНОГО
ОКИСНЕННЯ АЦИНАРНИХ КЛІТИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ
ЗА УМОВ ПАНКРЕАТИТУ *IN VITRO***

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: sdrv1992@gmail.com

Kotyk B., Sidorova O., Manko B.O., Manko V.V. GLUTAMINE AND PYRUVATE ROLE IN MITOCHONDRIAL OXIDATION OF PANCREATIC ACINAR CELLS UPON *IN VITRO* PANCREATITIS MODEL. The role of oxidative substrates glutamine and pyruvate in acute pancreatitis was investigated. Acute pancreatitis was modeled *in vitro* by addition of cholecystokinin and ethanol. Maximal mitochondrial respiration rate was assessed in isolated pancreatic acini using Clark electrode. Glutamine, as opposed to pyruvate, promotes the toxic effects of alcohol and cholecystokinin on mitochondria of pancreatic acinar cells.

Достатньо високе енергетичне забезпечення мітохондрій є необхідною умовою для збереження функціонування ацинарних клітин підшлункової залози за умов високих навантажень та дії негативних чинників. На ранніх етапах індукції гострого панкреатиту спостерігається зниження АТФ-синтетичної функції мітохондрій. Основними субстратами, що здатні підтримати високу окисну здатність мітохондрій у підшлунковій залозі, є глютамін та піруват. Метою дослідження було з'ясувати здатність цих субстратів забезпечувати мітохондріальні окисні процеси за моделювання гострого панкреатиту *in vitro*.

Досліди проведені на білих нелінійних щурах-самцях масою 250–300 г. Суспензію ізольованих панкреатичних ацинусів отримували з використанням колагенази за модифікованим методом Вільямса і співавт. [Williams et al., 1978]. Швидкість поглинання кисню суспензією інтактних панкреатичних ацинусів визначали полярографічним методом за температури 37 °C у базовому позаклітинному середовищі, що містило, ммоль/л: NaCl – 140,0, KCl – 4,7, CaCl₂ – 1,3, MgCl₂ – 1,0, HEPES – 10,0, глюкоза – 10,0, глютамін – 2,0, піруват – 2,0, БСА – 2,5 мг/мл, соєвий інгібітор трипсину – 0,1 мг/мл, суміш амінокислот; рН 7,4. Після виділення ацинуси 30 хв преінкубували у середовищі, яке містило такі субстрати окиснення: 1) глюкозу; 2) глюкозу і піруват; 3) глюкозу і глютамін; 4) глюкозу і суміш амінокислот; 5) глюкозу, піруват, глютамін і суміш амінокислот. Після цього ацинуси усіх дослідних груп впродовж 15 хв інкубували у середовищі, котре містило усі досліджувані субстрати окиснення (тобто, глюкозу, піруват, глютамін і суміш амінокислот). Паралельно моделювали гострий панкреатит *in vitro*, додаючи до середовищ інкубування 1–5 холецистокінін (0,1 нмоль/л) та етанол (20 ммоль/л). Максимальну окисну

здатність мітохондрій панкреатитів визначали, стимулюючи дихання протонофором FCCP у зростаючих концентраціях (0,5, 1 та 1,5 мкмоль/л), і оцінювали максимальною швидкістю дихання (незалежно від того, за якої концентрації протонофора ця швидкість була зареєстрована) та оптимальною концентрацією FCCP.

За наявності у середовищі преінкубації лише глюкози швидкість базального дихання (але не максимальна швидкість FCCP-стимульованого дихання) під впливом холецистокініну та етанолу збільшилася на 38 %, а за преінкубації з сумішшю глюкози і пірувату – на 19 %. Коли преінкубували ацинуси із сумішшю глюкози та глютаміну, максимальна швидкість FCCP-стимульованого дихання під впливом холецистокініну та етанолу знижувалась на 21 %. В інших дослідних групах ні швидкість базального дихання, ні максимальна швидкість FCCP-стимульованого дихання під впливом холецистокініну та етанолу не змінювалась.

За преінкубації ацинусів із глюкозою оптимальна концентрація FCCP зменшилася від 1,5 мкмоль/л у контролі до 1,29 мкмоль/л під впливом холецистокініну та етанолу, а за преінкубації із сумішшю глюкози та глютаміну – до 1,07 мкмоль/л. У всіх інших дослідних групах оптимальна концентрація FCCP не змінювалась.

Отже, за окиснення глютаміну, але не пірувату, максимальна окисна здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози під впливом алкоголю та холецистокініну суттєво знижується.

Кривдюк Ю., Філімонова Н.

**ЕЛЕКТРИЧНА АКТИВНІСТЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЖІНОК ПІД ЧАС ТЕСТУВАННЯ
ОПЕРАТИВНОЇ ПАМ'ЯТІ У РІЗНІ ФАЗИ МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛУ**

*ННЦ «Інститут біології та медицини»
Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Глушкова, 2, м. Київ, 03022, Україна
e-mail: tananarive108@gmail.com*

Kryvdiuk Y., Filimonova N. ELECTRICAL ACTIVITY OF WOMEN'S BRAIN DURING TESTING OF WORKING MEMORY IN DIFFERENT PHASES OF THE MENSTRUAL CYCLE. The main aim of our research was to investigate the influence of steroid hormones on brain activity, particularly memory during different phases of the menstrual cycle. We used the method of EEG, computer tests that have been developed at the University to determine the effectiveness of the working memory, test system "Arbor" to find out the phase of the menstrual cycle. By results of effective execution of tasks early follicular phase was the most favorable time for RAM (increase capacity of EEG potentials δ - and θ -ranges during the presentation of tests of varying complexity.). In follicular phase, followed by increase in the concentration of estrogen and a minimum of progesterone, maximal synchronization alpha rhythm and activation of the left hemisphere, luteal phase indicated the minimum efficiency of execution of tasks and reducing the activity of all ranges except beta-rhythms, under the influence of progesterone, which masks the positive effects of cortisol on memory in the middle of the luteal phase was observed.

У жінок з моменту настання статевої зрілості спостерігається циклічна зміна концентрації статевих гормонів у крові, а оскільки стероїдні статеві гормони здатні проходити гематоенцефалічний бар'єр, і дотепер залишається відкритим та актуальним питання про вплив статевих гормонів на функціональний стан головного мозку (ГМ) жінок, а, отже, і на характер його електричної активності (ЕЕГ). Метою нашого дослідження було проаналізувати зміни електричної активності ГМ у жінок під час різних фаз менструального циклу (МЦ) та виявити відповідні особливості ефективності оперативної пам'яті. Запис ЕЕГ у ранній фолікулярній фазі (РФФ) проводився на 5–7 день МЦ, у фолікулярній фазі

(ФФ) – 8–14 день МЦ, наявність і час овуляції (ФО) оцінювали за характером кристалізації вмісту слини згідно з даними тест-мікроскопа «Арбор», а у лютеїновій фазі (ЛФ) реєструвався на 19–28 день МЦ. Кожна з обстежуваних послідовно проходили наступну процедуру обстежень: реєстрація та аналіз змін ЕЕГ-параметрів, визначення швидкості простої сенсомоторної реакції та часу реакції вибору, субтести для оцінки оперативної пам'яті: запам'ятовування геометричних фігур (ПамГ), та літер (ПамЛ).

Реєстрація електричних потенціалів здійснювалась відповідно до вимог міжнародної системи «10-20 %». Статистичний аналіз даних проводили за допомогою пакету STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA, 2008). Під час РФФ відбулося зростання потужності ЕЕГ-потенціалів δ - і θ -діапазонів під час пред'явлення тестів різної складності. Активація δ -ритмів у префронтальній корі під час проходження субтесту ПамГ корелювала з підвищенням складності завдання, а отже – залученням більшого об'єму уваги. Зростання посилення θ -коливань у скроневих зонах правої півкулі свідчить про підвищення рівня уваги та запам'ятовування нових пред'явлених стимулів. Додаткове зростання потужності θ -діапазону у фронтальній корі під час виконання тесту ПамГ свідчить про активацію асоціативної пам'яті та образного мислення. Треба зазначити, що у ФФ спостерігалась найповніша та найвиразніша синхронізація α -ритму. А також активація лівої півкулі більшою мірою, ніж правої. У ФО при ускладненні тестів активізувалась більшою мірою права гемісфера, а також знизилась активність β -активності низько-частотного діапазону, який корелює, як відомо з процесами зовнішньої уваги та з формуванням емоційних реакцій. Найнижча ефективність виконання завдань та зниження активності усіх ЕЕГ-діапазонів, окрім β -ритмів, в наших обстеженнях спостерігалось у ЛФ. Таким чином, за результатами ефективності виконання завдань найсприятливішим часом для роботи оперативної пам'яті виявилася РФФ, хоча функціональна активність та синхронізація ритмів ЕЕГ більшою мірою відмічалися у ФФ.

Мазур Г., Манько Б. О., Манько В. В.

МАКСИМАЛЬНА ОКИСНА ЗДАТНІСТЬ МІТОХОНДРІЙ ІНТАКТНИХ
ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ АЛКОГОЛЮ НА ТЛІ
ВИСОКОЖИРОВОЇ ДІЄТИ

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: halynamazur92@gmail.com*

Mazur H., Manko B.O., Manko V.V. MAXIMAL OXIDATIVE CAPACITY OF MITOCHONDRIA OF INTACT LIVER CELLS AT CONTINUOUS INFUSION OF ALCOHOL AT A HIGH FAT BACKGROUND DIET. Acute alcohol consumption causes functional impairment of liver and induces alterations in the mitochondrial structure and function. Mitochondria play an important role in alcohol metabolism via ALDH that catalyzes the conversion of acetaldehyde into acetate. The effects of oral alcohol administration on maximal oxidative capacity of intact liver cells mitochondria were investigated. It was established that alcohol caused increased mitochondrial respiration upon glucose or succinate oxidation or without substrates.

У печінці метаболізується основна частина алкоголю, що потрапляє в організм. Окиснення етанолу в гепатоцитах каталізується в основному двома ферментами – алкогольдегідрогеназою в цитоплазмі та альдегіддегідрогеназою у мітохондріях. Мітохондріальне дихання відіграє важливу роль у метаболізмі алкоголю шляхом регенерації НАД⁺, який регулює активність обох ферментів і є необхідним для етанол-ацетальдегід метаболізму [Han, 2012]. Метою роботи було дослідити максимальну окисну здатність мітохондрій інтактних гепатоцитів за тривалого введення алкоголю.

Дослідження проводили на щурах (самцях) лінії Wistar масою 250–300 г, що перебували на дієті з високим (35 %) вмістом тваринного жиру. Дослідним тваринам щоденно протягом 14 днів вводили перорально спиртовий розчин (6 г на 1 кг), контрольним тваринам – аналогічні об'єми води. Ізолювання гепатоцитів здійснювали двостадійним методом Сеглена. Цілісність плазматичних мембран гепатоцитів оцінювали фарбуванням клітин 0,1 % розчином трипанового синього. Базове позаклітинне середовище містило, ммоль/л: NaCl – 140,0, KCl – 4,7, CaCl₂ – 1,3, MgCl₂ – 1,0, HEPES – 10,0; pH 7,4. До цього розчину додавали, піруват, монометил-сукцинат (2 ммоль/л) чи глюкозу (10 ммоль/л) та інкубували у ньому ізолювані гепатоцити протягом 15 хв. Швидкість споживання кисню інтактними гепатоцитами визначали полярографічним методом за температури 37 °C. Статистично вірогідною вважали різницю з $P \leq 0,05$. Максимальну окисну здатність мітохондрій гепатоцитів визначали, стимулюючи дихання протонофором FCCP у зростаючих концентраціях (0,25, 0,5, 1 та 1,5 мкмоль/л), і оцінювали максимальним збільшенням швидкості дихання (не залежно від того, за якої концентрації протонофора це збільшення зареєстровано) та оптимальною концентрацією FCCP.

Алкоголь збільшував максимальну швидкість дихання мітохондрій за використання безсубстратного середовища на 68 %, за глюкозовмісного середовища – на 34 %, сукцинатвмісного середовища – на 90 %. Але дихальний контроль (відношення максимальної швидкості FCCP-стимульованого дихання до швидкості дихання до дії FCCP) за окиснення жодного субстрату не змінювався. Введення тваринам алкоголю не змінювало і максимальної швидкості FCCP-стимульованого дихання за окиснення пірувату. Алкоголь не впливав на оптимальну концентрацію FCCP, яка за використання безсубстратного середовища, окиснення глюкози чи сукцинату становила 0,25 мкмоль/л, а за окиснення пірувату – 0,35 мкмоль/л.

Отже, за тривалого введення алкоголю максимальна швидкість FCCP-стимульованого дихання гепатоцитів збільшується (але не за окиснення пірувату), а оптимальна концентрація FCCP та дихальні контролю не змінюються. Збільшення швидкості мітохондріального дихання гепатоцитів щурів за дії алкоголю може свідчити про активацію компенсаторних механізмів, спрямованих на збереження енергетичного гомеостазу гепатоцитів.

Павлович О., Абрамчук О., Шварц Л., Поручинський А., Моренко А.
МІЖГРУПОВІ ЗМІНИ ПОТУЖНОСТІ ЕЛЕКТРОЕНЦЕФАЛОГРАМИ
В ЧОЛОВІКІВ І ЖІНОК ІЗ РІЗНИМ ПРОФІЛЕМ АСИМЕТРІЇ
У СТАНІ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СПОКОЮ

*Східноєвропейський національний університет ім. Лесі Українки
пр.-т Волі, 13, м. Луцьк, 43025, Україна
e-mail: olga-pos@ukr.net*

Pavlovych O., Abramchuk O., Shvarcz L., Poruchynskyi A., Morenko A. CHANGES OF EEG POWER BETWEEN GROUPS OF MEN AND WOMEN WITH DIFFERENT PROFILE OF ASYMMETRY IN STATE OF FUNCTIONAL INACTIVITY. The power of EEG in θ -, α -, β -, γ -oscillations in groups of men and women with left- and right-sided profile manual and auditory asymmetry was studied. It was established that men with left- sided asymmetry profile compared with right-sided profile had lower power of α -fluctuations and higher capacity of β - and γ -EEG oscillations in the cortex. Women with left-sided asymmetry profile compared to another group of women had lower capacity of EEG of all over the cortex in θ - oscillations, in β -oscillations such changes were registered in the frontal branches and in α -, γ -band of EEG changes was recorded in parietal-occipital areas of the right hemisphere.

Дослідили електроенцефалограму (ЕЕГ) двох груп обстежуваних із різностатевими підгрупами, а саме 50 осіб чоловічої й 50 – жіночої статей з правобічним профілем мануальної та слухової асиметрії (ППА); 35 осіб чоловічої й 35 – жіночої статей відповідно з лівобічним (ЛПА) [Брагіна, 1981]. Електричну активність кори головного мозку реєстрували за допомогою апаратно-програмного комплексу «НейроКом» (Харків, 2007). ЕЕГ обстежуваних реєстрували в стані функціонального спокою. При цьому обстежувані перебували в стані неспання із заплющеними очима в положенні напівлежачи, кінцівки розслаблені, не перехрещені. Для оцінки електроенцефалограми аналізували потужність у всіх відведеннях ЕЕГ у θ -, α -, β -, γ -діапазонах. Потужність відображає енергію окремих частотних діапазонів ЕЕГ та їх кількісну характеристику; визначається як квадрат амплітуди (мкВ^2) коливань. Статистично достовірні відмінності обчислювали між групами за допомогою методів параметричної статистики (t-критерій Стюдента, $p \leq 0,05$).

Результати наших досліджень були спрямовані на з'ясування відмінностей між чоловіками та жінками різних профільних груп. Встановлено, що чоловіки з ЛПА характеризуються нижчою потужністю α - та вищою β - і γ -коливань ЕЕГ у корі, порівняно з чоловіками з ППА. Відповідно до даних літератури [Klimesch, 2001], це може вказувати на вищий рівень процесів активації в корі в чоловіків із лівобічним профілем асиметрії. Переважання змін потужності в β -діапазоні в лівій півкулі може свідчити про більшу роль ретикулярної формації у формуванні фонові активності ЕЕГ кори головного мозку. Згідно з даними літератури, саме ретикулярна формація має більш тісний зв'язок зі структурами лівої півкулі [Жаворонкова, 2006]. Лівопрофільні жінки, порівняно з правопрофільними відзначалися нижчою потужністю ЕЕГ у корі. Такі зміни потужності зареєстрували по всій корі в θ -діапазоні, в β -діапазоні – в лобових відведеннях, у α -, γ -діапазонах ЕЕГ – в тім'яно-потиличних ділянках правої півкулі. Припускаємо, що це може відображати переважання неспецифічних впливів, що зумовлюють більший вихідний рівень просторової уваги [Bastiaansen, 2005] та менші інтегративні можливості кори, пов'язані з організацією специфічних форм уваги, потрібних для забезпечення вищих когнітивних функцій [Pulvermuller, 1997] у лівопрофільних жінок, порівняно з правопрофільними жінками.

Отже, за результатами потужності електроенцефалограми встановлені відмінності в формуванні фонові активності ЕЕГ кори головного мозку в чоловіків та жінок із різним профілем асиметрії. Виявлені вихідні особливості фонові активності ЕЕГ кори головного мозку при дослідженнях необхідно враховувати, оскільки вони здійснюють визначальний вплив на організацію нервових процесів при будь-якому виді діяльності обстежуваного.

Пазюк О., Сідорова О., Манько Б. О., Манько В. В.

ВПЛИВ АЛКОГОЛЮ *IN VIVO* НА МІТОХОНДРІАЛЬНЕ ДИХАННЯ АЦИНАРНИХ
КЛІТИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЗА РОЗВИТКУ ПАНКРЕАТИТУ

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

e-mail: sdrv1992@gmail.com

Pazyuk O., Sidorova O., Manko B.O., Manko V.V. ALCOHOL EFFECTS *IN VIVO* ON MITOCHONDRIAL RESPIRATION OF PANCREATIC ACINAR CELLS UPON PANCREATITIS DEVELOPMENT. Heavy alcohol consumption is a potential risk factor for induction of pancreatitis. The effects of oral alcohol administration on maximal oxidative capacity of intact acinar cells mitochondria were investigated. Therefore, chronic alcohol administration induces deterioration of mitochondrial ATP synthesis and increases the capacity to oxidize glucose in pancreatic acinar cells.

Зростання рівня захворюваності на гострий панкреатит в Україні пов'язане з дією на організм негативних чинників середовища та алкогольної інтоксикації. Значною мірою

в основі цієї патології лежать гострі порушення функціонування мітохондрій ацинарних клітин [Odnokova et al., 2009; Gerasimenko et al., 2011]. Але досі достеменно не з'ясовано, як у ході розвитку панкреатиту змінюється мітохондріальне дихання ацинарних клітин підшлункової залози за окиснення різних субстратів.

Досліди проведені на щурах (самцях) лінії Wistar масою 250–300 г, що перебували на дієті з високим (35 %) вмістом тваринного жиру. Дослідним тваринам щоденно протягом 14 днів вводили перорально спиртовий розчин (6 г на 1 кг), контрольним – аналогічні об'єми води. Суспензію ізольованих панкреатичних ацинусів отримували з використанням колагенази за модифікованим методом Вільямса і співавторів [Williams et al., 1978]. Швидкість поглинання кисню суспензією інтактних панкреатичних ацинусів визначали полярографічним методом за температури 37 °C у базовому позаклітинному середовищі, що містило, ммоль/л: NaCl – 140,0, KCl – 4,7, CaCl₂ – 1,3, MgCl₂ – 1,0, HEPES – 10,0, глюкоза – 10,0, піруват – 2, глутамін – 2, БСА – 2,5 мг/мл, соєвий інгібітор трипсину – 0,1 мг/мл, суміш амінокислот; рН 7,4. Максимальну окисну здатність мітохондрій панкреатитів визначали, стимулюючи дихання протонофором FCCP у зростаючих концентраціях (0,5, 1, 1,5 та 2 мкмоль/л), і оцінювали максимальною швидкістю дихання (V_{max}), а також відношенням цієї швидкості до базальної швидкості дихання (V_{max}/basal). Для оцінки окисного фосфорилування використовували відношення швидкості дихання за дії олігоміцину (5 мкмоль/л) до базальної швидкості дихання (ОМУ/basal). Для розрахунку дихального контролю застосовували відношення швидкості дихання за дії олігоміцину до швидкості FCCP-стимульованого дихання.

V_{max} та відношення V_{max}/basal за окиснення суміші субстратів (пірувату, глюкози і глутаміну) у контрольній виявилися вдвічі більшими, ніж за окиснення лише глюкози. Аналогічно, дихальний контроль був вищим на 130 % за окиснення суміші субстратів, ніж за окиснення глюкози. Олігоміцин однаково інгібував швидкість дихання ацинарних клітин підшлункової залози за окиснення глюкози та суміші субстратів – на 54 і 57 % відповідно. Відношення ОМУ/basal теж не залежало від субстрату окиснення.

Алкоголь за окиснення глюкози збільшував відношення V_{max}/basal та ОМУ/basal на 28 і 43 % відповідно, хоча базальна швидкість дихання та дихальний контроль не змінювались. За окиснення суміші субстратів алкоголь підвищував відношення ОМУ/basal на 40 % та зменшував дихальний контроль на 37 %.

Отже, хронічне введення тваринам алкоголю спричиняє у ацинарних клітинах підшлункової залози порушення процесів мітохондріального синтезу АТФ та збільшує здатність окиснювати глюкозу.

Погребна А., Цапенко П., Весельський С., Лященко Т.

ЖОВЧОСЕКРЕТОРНА ФУНКЦІЯ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ІШЕМІЇ-РЕПЕРФУЗІЇ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01601, Україна

e-mail: p-a-v1995@ukr.net

Pohrebna A., Tsapenko P., Veselsky S., Lyaschenko T. BILE SECRETION AT ISCHAEMIA-REPERFUSION OF LIVER. The stress impact of human organism is an important issue for today. Ischaemia-reperfusion or hypoxia can cause oxidative stress in the liver. The mechanisms of liver ischaemia-reperfusion is the object of many researches, but there are still not well understood, including factors that cause this process. In our experiments it was found that liver ischaemia influence on secretion process of all bile acids factions, and above all suffer from oxygen deficiency conjugation processes.

На сьогодні важливою галуззю є дослідження впливу стресу на різні системи та органи, використовуючи різні методи моделювання стресу. Останнім часом набувають поширення методи механічного моделювання цього стану, за застосування яких тварина не

зазнає психо-емоційного впливу. Відомо, що за тимчасової гіпоксії печінки, яка може виникнути внаслідок дії стресу, порушень механізмів регуляції кровопостачання органу або його трансплантації, змінюється електрон транспортний ланцюг мітохондрій, що сприяє збільшенню кількості активних форм кисню. Це є підставою для індикації окислювального стресу. За відновлення кровопостачання органу виникає ішемія-реперфузія печінки, що в подальшому призводить до порушення її функцій та фізіологічного стану. Метою роботи було порівняти дію механічно індукованого стресу на жовчовидільну функцію печінки з дією хімічного стресу.

Досліди проводили на білих щурах-самцях масою 200–250 г з відпрепарованою і канюльованою жовчною протокою в умовах гострого експерименту. Тваринам проводили лапаротомію, механічно перетискали ворітну вену та печінкову артерію на 10 хв, а в іншій групі на 15 хв. Звільнивши судини, починали реєстрацію об'єму жовчі з інтервалом у 10 хв. Через 30 хв в черевну порожнину вводили 0,9 % розчин NaCl. Контролем слугували досліди з групою тварин, яким не проводили моделювання стресу. У кожній півгодинній пробі жовчі хроматографічно визначали якісний та кількісний склад кислотної фракції секрету за Весельським С.П. та співавторами.

Наші дослідження показали, що після реперфузії печінки спостерігається зниження загального рівня холерезу (значуща різниця наявна у перших двох 30-ти хвилинних пробах), що, можливо, пов'язано з відсутністю доступу рідини (крові) до клітин печінки, тобто з відсутністю секреції рідкої фракції жовчі та, можливо, з дією на клітини печінки окислювального стресу, анаеробного метаболізму та ацидозу. Спостерігається поступове відновлення рівня холерезу до контрольних значень, що, можливо, пов'язане з відновленням кровопостачання до органу та з протекційними властивостями гепатоцитів.

Біохімічний аналіз жовчі виявив значущі відмінності вмісту жовчних кислот у тварин з моделюваною ішемією-реперфузією порівняно з контрольною групою. Зокрема спостерігалось значуще зниження дебіту таурохолевої кислоти. Вміст суміші диоксихолатів, кон'югованих з таурином, був значущо нижчим відносно контролю впродовж всього експерименту. Подібну тенденцію мали й зміни вмісту фракцій глікокон'югованих жовчних кислот. Вільні жовчні кислоти, а саме холева та хенодиоксихолева, мали стійку тенденцію до зниження рівня концентрації, хоча статистично значущі відмінності відносно контрольних значень в ході досліджень не були виявлені.

Отже, ішемія печінки позначається на процесах секреції усіх фракцій жовчних кислот, але насамперед страждають від недостатності кисню процеси кон'югації.

Поліщук О. О., Романенко М. Г., Муравинець О. А.

**ВИВЧЕННЯ ЦИТОТОКСИЧНОЇ ДІЇ АНТИСИРОВАТКИ ПРОТИ ЕМБРІОНАЛЬНИХ
НЕЙРОНАЛЬНИХ КЛІТИН ГОЛОВНОГО МОЗКУ (ЕНКГМ) НА КЛІТИНИ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГЛІОМИ C₆**

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

вул. Володимирська, 60, м. Київ, 01033, Україна

Місце проведення роботи: ДУ Інститут нейрохірургії імені акад. Ромоданова

вул. Платона Майбороди, 32, м. Київ, 04050, Україна

e-mail: folgorm96@gmail.com

Polishchuk O., Romanenko M., Muravynets O. THE STUDY OF CYTOTOXIC INFLUENCE OF ANTISERUM AGAINST EMBRYONIC NEURAL BRAIN CELLS (ENBC) ON CELL OF THE EXPERIMENTAL GLIOMA C₆. Glioma is the most common primary brain tumor. Therefore, the search for anti-glioma tools is very important. Enhanced elimination of cancer cells without affecting normal body cells can be achieved by developing strategies which use specific anti-tumor antibodies. In this paper we study the effect of antiserum obtained from the immunized rabbit on glioma C₆ cells.

Гліоми – найпоширеніші первинні пухлини головного мозку, тому пошук засобів боротьби з ними є вкрай важливим. Нами було досліджено вплив антисироватки на клітини гліоми C_6 . Експеримент мав чотири дослідні групи. У першій групі до суспензії клітин експериментальної пухлини (КЕП) C_6 додавали виснажену видовими антигенами антисироватку і комплемент (сироватка крові щура). У другій групі до суспензії КЕП C_6 додавали комплемент, а в третій – невиснажену антисироватку. Четверта група була контрольною. Для культивування була використана культура із життєздатністю 94 %.

На третю добу культивування у контрольній групі 9 % клітин були нежиттєздатними. Практично не відрізнялись показники серії дослідів, де до культуральної суспензії клітин пухлини C_6 додавали невиснажену антисироватку – індекс інгібіції проліферації клітин становив 46 %. У першій групі це значення було вірогідно нижчим (29 % нежиттєздатних клітин), а індекс інгібіції проліферації становив 52 %. У другій дослідній групі індекс інгібування проліферації клітин становив 41 % і лише 9 % клітин були нежиттєздатними.

На третю добу культивування індекс інгібування проліферації клітин у всіх групах знижувався порівняно з контролем: від цитотоксичної дії антисироватки з комплементом – у 5,81 разів, за додавання комплементу – у 3,73 разів, від неочищеної сироватки – у 4,47 разів.

Різка збільшення концентрації клітин спостерігалось за додавання в культуру неочищеної антисироватки – показник майже не відрізнявся від даних в контрольній групі. Отже, додавання в культуру невиснаженої сироватки не чинить цитотоксичної дії.

На десяту добу індекс інгібіції проліферації за додавання у культуру комплементу був на рівні 31 %, що вказує на його цитотоксичність; цитотоксичність комплементу в процесі культивування поступово знижується. У 3-й серії дослідів, де клітини піддавались дії невиснаженої антисироватки, індекс інгібіції становив 38 %, що свідчить про подібність цитотоксичної дії неочищеної антисироватки та комплементу. Під впливом виснаженої антисироватки індекс інгібування проліферації клітин гліоми C_6 на 10-ту добу вірогідно підвищився до 74 %. Отже, найбільший цитотоксичний вплив на ріст клітин C_6 у культурі чинить виснажена антисироватка проти ЕНКГМ мишей.

Аналіз життєздатності клітин гліоми C_6 показав, що комплемент не чинить цитотоксичної дії на культуру клітин гліоми C_6 , проте за використання його в комплексі з антисироваткою цитотоксичний вплив був значний.

Отримані дані свідчать, що антисироватки в присутності комплементу цитотоксично діють на частину чутливих клітин і гальмують їхній ріст і проліферацію. Це дозволяє вважати, що специфічні антитіла направлені на певну субпопуляцію клітин, можливо – на стовбурові пухлинні клітини.

Рижа А., Савосько С.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ГОСТРОЇ НЕЙРОІНФЕКЦІЇ НА СТАН ТРАВМАТИЧНО ПОШКОДЖЕНОГО СІДНИЧОГО НЕРВА ТА ДЕНЕРВОВАНИХ М'ЯЗИВ ГОМІЛКИ

*Національний медичний університет імені О.О. Богомольця
вул. Т. Шевченка, 13, м. Київ, 01601, Україна
e-mail: alyona.rsev1995@gmail.com*

Ryzha A., Savosko S. THE STUDY OF ACUTE NEUROINFECTION EFFECT ON TRAUMATICALLY INJURED SCIATIC NERVE AND DENERVATED SHIN MUSCLES. The effect of acute neuroinfection (HSV-1) on traumatically injured sciatic nerve regeneration and the change of denervated shin muscles biochemical parameters has been studied in the experiment. The SEM defined nerve's stromal elements violation and fasciculus destruction in the distal part. The increase of peroxidation products as well as the decrease of free thiol groups were discovered in the muscles.

Пошкодження периферійного нерва найчастіше має наслідком втрату функції кінцівок. Регенераційний процес у травмованому нерві є багатостадійним і тривалим у зв'язку зі складністю структурних утворень нерва та посттравматичних змін у його дистальному сегменті, а також втратою нейро-м'язових взаємодій. Для успішного росту нервових волокон вкрай необхідне збереження стромальних елементів нерва. Водночас вплив гострої герпетичної нейроінфекції на процеси відновлення травмованого нерва раніше не вивчався. З огляду на високу частоту виявлення латентної і персистентної герпетичної інфекції та існуючі наукові дані щодо її ролі в розладах нервової системи метою роботи було дослідити особливості регенерації сидничого нерва та стан денервованих м'язів на тлі гострої нейроінфекції.

Експериментальне дослідження провели на мишах лінії BALB/c, середньою вагою 18–20 г. Для дослідження сформували 3 групи тварин: 1) контрольну, 2) групу тварин із травмою нерва, 3) групу тварин-носіїв нейроінфекції із травмою нерва. Тварин 3-ї групи інфікували вірусом простого герпесу 1 типу. Через 30–40 діб після регресу симптоматики гострої нейроінфекції на рівні верхньої третини нерва моделювали локальне розчавлення сидничого нерва (ділянка ураження 2–3 мм). Через 30 діб дистальний сегмент нерва дослідили за допомогою гістологічних методів та методу растрової (скануючої) електронної мікроскопії (СЕМ). Ступінь деструктивних та метаболічних змін у скелетних м'язах гомілки виявили за допомогою гістологічних досліджень, електрофорезу ДНК в агарозному гелі, визначення рівню ТБК-активних продуктів, дієнових кон'югатів, карбонільних груп, вільних SH-груп та DT-діафрази.

За результатами досліджень у ділянці пошкодження реєстрували деструктивні зміни нерва та посттравматичну неврому. Метод СЕМ дозволив встановити збереження архітекτονіки фасцикул у дистальному сегменті нерва, елементів сполучної тканини, так званого «скефолду», і власне окремі регенеруючі нервові волокна. Слід зазначити, що у тварин-носіїв нейроінфекції ендоневральні елементи у фасцикулах нерва мали значно збільшений діаметр і ознаки локальної деструкції. Гіпотрофія скелетних м'язів у 2-й і 3-й дослідних групах тварин характеризувалася різним ступенем тяжкості: у всіх тварин виявлено зменшення діаметру м'язових волокон, проте у тварин з нейроінфекцією показники зменшилися майже у 2 рази порівняно з контрольними значеннями ($p \leq 0,05$). Реакція ендогенних цитопротекторних механізмів у м'язах полягала у різкому збільшенні продуктів пероксидації (дієнових кон'югатів, карбонільних груп) та зниженні вільних низькомолекулярних SH-груп, що вказує на виснаження м'язової тканини. У тварин-носіїв вірусу метаболічні порушення мали більший ступінь прояву. Разом з тим, ознак фрагментації ДНК у досліджуваних м'язах гомілки методом електрофорезу не виявили, що вказує на резистентність м'язової тканини до денервації впродовж 30 діб.

Отже, гостру нейроінфекцію, спричинену вірусом простого герпесу 1 типу, слід розглядати як ускладнюючий фактор патологічних станів не лише центральної, а й периферичної нервової системи.

Сідорова О., Манько Б. В., Мерлавський В., Манько Б. О.

**ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН МІТОХОНДРІЙ АЦИНАРНИХ КЛІТИН
ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЗА ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ АЛКОГОЛЮ
НА ТЛІ ВИСОКОЖИРОВОЇ ДІЄТИ**

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

e-mail: sdrv1992@gmail.com

Sidorova O., Manko B.V., Merlavsky V., Manko B.O. MITOCHONDRIAL FUNCTIONAL STATE OF PANCREATIC ACINAR CELLS UPON CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION AND HIGH-FAT DIET. Mitochondria are the cellular structures affected by negative factors contributing to the development of pancreatitis. Mitochondrial functional state

upon influence of chronic oral alcohol administration in combination with high-fat diet was investigated. Combined chronic alcohol intoxication and high-fat diet induced decreasing of mitochondrial membrane potential and cell's functional state violation.

Одним з найпоширеніших чинників виникнення панкреатиту є алкоголь [Castineira-Alvarino et al., 2013; Criddle, 2015], проте механізми його впливу недостатньо досліджені. Порушення мітохондріальних енергетичних процесів може бути ключовою ланкою розвитку цього захворювання. Метою роботи було дослідити вплив алкоголю на функціонування мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози за тривалого введення алкоголю на тлі високожирової дієти.

Досліди проведені на щурах-самцях лінії Wistar масою 250–300 г. Дослідним тваринам щоденно протягом 14 днів вводили у стравохід 40 %-й розчин етанолу у розрахунок 6 г/кг маси тіла. Контрольним тваринам вводили аналогічні об'єми питної води. Для харчування тварин використовували спеціальні корми з вмістом тваринного жиру 35 %. Суспензію ізольованих панкреатичних ацинусів отримували з використанням колагенази за модифікованим методом Вільямса і співавт. [Williams et al., 1978]. Базове позаклітинне середовище містило, ммоль/л: NaCl – 140,0, KCl – 4,7, CaCl₂ – 1,3, MgCl₂ – 1,0, HEPES – 10,0, глюкоза – 10,0, глутамін – 2,0, піруват – 2,0, БСА – 2,5 мг/мл, соєвий інгібітор трипсину – 0,1 мг/мл, суміш амінокислот; рН 7,4. Дослідження функціонального стану мітохондрій оцінювали за допомогою флуоресцентної мікроскопії із застосуванням родаміну 123 (10 мкг/мл). Довжина збуджуючої хвилі 490–500 нм, а емісії – 600–700 нм. FCCP у концентраціях 0,5–5 мкмоль/л використовували для дисипації мембранного потенціалу мітохондрій. Вірогідність змін встановлювали за t-тестом Стьюдента.

Частка некротичних клітин підшлункової залози, отриманих із контрольних тварин, виявилася невисокою ($6,6 \pm 0,45$ %), але суттєво зростала у дослідних тварин ($11,4 \pm 1,43$ %). Інтенсивність флуоресценції ацинарних клітин, зафарбованих родаміном 123, була на порядок вищою, ніж фонові флуоресценції, і не залежала від субстрату(ів) окиснення. Преінкубація (1 хв) з FCCP у всіх випадках дозозалежно спричиняла підвищення інтенсивності флуоресценції. Максимальні значення були приблизно вдвічі більшими, ніж до дії FCCP (1–5 мкмоль/л, залежно від субстрату). За окиснення глюкози, глутаміну, пірувату чи сукцинату (середовище містило тільки один субстрат окиснення) інтенсивність флуоресценції клітин внаслідок додавання FCCP зростала однаково у контрольних і дослідних тварин. Лише за окиснення суміші глюкози, пірувату і глутаміну інтенсивність флуоресценції під впливом FCCP зростала швидше у дослідних тварин. Константа IC₅₀ для FCCP за окиснення цієї суміші у дослідних тварин виявилася на 30 % меншою, ніж у контрольних.

FCCP-індуковане збільшення інтенсивності флуоресценції клітин, зафарбованих родаміном 123, спричинене розсіюванням цього барвника цитоплазмою внаслідок зменшення мембранного потенціалу мітохондрій. Внаслідок хронічного введення тваринам алкоголю на тлі високожирової дієти спостерігається зменшення стійкості мембранного потенціалу мітохондрій до дії протонофора, що прямо корелює із зниження життєздатності ацинарних клітин підшлункової залози.

Скиба Х., Остапів Р., Манько В. В.

ВПЛИВ ТРИВАЛОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ ТАУРИНУ НА ОКРЕМІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ЩУРІВ

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

e-mail: romostapiv@gmail.com

Skyba Ch., Ostapiv R., Manko V.V. EFFECT OF TAURINE ORAL LONG-TERM ADMINISTRATION ON SOME BLOOD INDEXES OF RATS. Study of the effect of long-term oral administration of taurine on some blood indexes of rats (red blood cell quantity, hemoglobin

content and oxygenation, glucose concentration, lactate dehydrogenase activity) was conducted. Our results revealed that oral administration of taurine in doses 10 and 20 mg/kg leads to increase of hemoglobin content and oxygenation, decrease in glucose content.

Проведено дослідження впливу тривалого перорального введення таурину на окремі фізіологічні (кількість еритроцитів, вміст та оксигенація гемоглобіну, кольоровий показник крові, концентрація глюкози та холестерину) та біохімічні (активність лактатдегідрогенази, аспартат- та аланінамінотрансферази, ензимів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів) показники крові щурів. Дослідження проведені на самцях щурів лінії Wistar, яких ділили на три групи – контрольну (щоденно протягом 28 днів вводили у стравохід питну воду) та дві дослідні, яким вводили розчин таурину з розрахунку 5 (II дослідна група), 10 (II дослідна група) та 20 (III дослідна група) мг/кг маси тіла відповідно. Встановлено, що тривале пероральне введення таурину не впливає на кількість еритроцитів. Нами зареєстровано, що у крові тварин I дослідної групи зростає вміст гемоглобіну та кольоровий показник крові. При цьому, збільшилась і оксигенація крові у щурів обох дослідних груп, що вказує на потребу організму у кисні. Концентрація глюкози у плазмі крові у тварин II та III дослідних груп знизилась, а активність лактатдегідрогенази зросла, що говорить про інтенсифікацію метаболізму. Вміст холестерину, активність аспартатамінотрансферази та ензимів антиоксидантного захисту залишались на контрольному рівні у крові щурів усіх дослідних груп. Активність аланінамінотрансферази та вміст ТБК-активних продуктів знижувались у плазмі крові тварин III дослідної групи, що вказує на зниження процесів вільнорадикального окиснення.

Одержані результати свідчать, що таурин інтенсифікує метаболізм у тварин II та III дослідних груп, на що вказує зниження концентрації глюкози та ріст активності лактатдегідрогенази. При цьому, зростає потреба у кисні і збільшується вміст гемоглобіну та кольоровий показник крові. Крім цього, у III дослідній групі тривале пероральне введення таурину сприяє зниженню рівня вільнорадикального окиснення, про що говорять знижений вміст ТБК-активних продуктів і нижча ніж у контролі активність аланінамінотрансферази.

Стецька В., Голота Ю., Довбинчук Т., Сергійчук Т., Толстанова Г.

**ВІДДАЛЕНІ НАСЛІДКИ ВВЕДЕННЯ ЦЕФТРИАКСОНУ НА ПРОНИКНІСТЬ
ЕПІТЕЛІУ ТА СКЛАД ПРОСВІТНОЇ МІКРОБІОТИ ТОВСТОЇ КИШКИ ЩУРІВ**

*Київський національний університет ім. Тараса Шевченка
Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини»
просп. Академіка Глушкова, 2, м. Київ, 03022, Україна
e-mail: victoria_stetska@ukr.net*

Stetska V., Holota Yu., Dovbynychuk T., Serhiychuk T., Tolstanova G. LONG-TERM EFFECTS OF CEFTRIAXONE ADMINISTRATION ON EPITHELIUM PERMEABILITY AND CHANGES IN THE MICROBIAL COMPOSITION OF RAT COLON. Antibiotics lead to sustained gastrointestinal microbiota disturbances. Our research revealed dysbiotic changes of the colon microbiota, intestinal barrier dysfunction, and bacterial translocation to blood and lymph nodes in 8 weeks after ceftriaxone withdrawal.

Епідеміологічні дослідження показали, що антибіотикотерапія вірогідно підвищує сприйнятливості організму до розвитку запальних захворювань кишечника. Дисбіотичні зміни складу мікробіоти та обумовлені ними порушення бар'єрної функції кишечника можуть призводити до дисрегуляції взаємодії між клітинами епітелію, імунними клітинами власної пластинки слизової оболонки та мікробіотою кишечника і, як наслідок, підтримувати патологічне запалення слизової.

Метою роботи було визначити віддалені наслідки введення цефтриаксону (Цф) на стан мікробіоти та бар'єрну функцію епітелію товстої кишки.

Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Вістар ($n = 20, 140\text{--}160$ г). Цефтриаксон-Дарниця (300 мг/кг, в. м.) вводили щоденно впродовж 14 днів. Аутопсію здійснювали на першу добу та через 8 тижнів після відміни введення Цф. Кількісні зміни мікробіоти фекалій щурів і транслокацію бактерій в лімфатичні вузли та кровоносне русло оцінювали бактеріологічно висівом на елективні середовища. Бар'єрну функцію епітелію товстої кишки визначали за проникністю фарби Еванс синього із кишечника у кров ворітної вени через 30 та 60 хв після введення у просвіт товстої кишки щурів на першу добу та через 8 тижнів. Достовірність отриманих результатів оцінювали за t -критерієм Стьюдента.

Введення Цф впродовж 14 днів призводить до елімінації *E. coli* з нормальними ферментативними властивостями та збільшення кількості умовно-патогенних ентеробактерій та *S. aureus* у 4 рази ($P < 0,05$). Кількість гемолітичних бактерій збільшувалась в 2 рази ($P < 0,05$). Введення Цф не спричинило вірогідних змін проникності епітелію товстої кишки щурів на першу добу, однак кількість бактерій у лімфатичних вузлах збільшилася в 1,3 рази, а в крові – 1,2 рази.

Через 8 тижнів після відміни Цф різко зростає кількість як *E. coli* з нормальними ферментативними властивостями, так і *E. coli* зі зміненими ферментативними властивостями. Крім того, спостерігається збільшення кількості *Clostridium spp.* в 1,6 разів ($P < 0,05$), умовно-патогенних ентеробактерій – у 5,6 разів ($P < 0,05$) та *Staphylococcus spp.* – 6,7 разів ($P < 0,05$) порівняно із контрольними значеннями. Ці зміни супроводжувались збільшенням проникності епітелію товстої кишки щурів у 2 рази ($P < 0,05$) відносно контролю. Транслокація бактерій у кров збільшувалась у 1,5 рази ($P < 0,05$), а в лімфатичні вузли – 1,2 рази ($P < 0,05$) порівняно із значеннями, отриманими на наступний день після відміни Цф.

Отже, введення Цф призводить до дисбіотичних змін, порушення бар'єрної функції товстої кишки щурів і транслокації мікроорганізмів в кров та лімфатичні вузли, які посилюються з часом після відміни антибіотика.

Храбко М.¹, Тесарівська У.², Цап М.¹, Колещук О.¹

**РОЗВИТОК ОРГАНІЗМУ САМЦІВ ЩУРІВ F₂ ТА ПОКАЗНИКИ ЙОГО
ІМУНОФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ ЗА ДІЇ РІЗНИХ ДОЗ НАНОГЕРМАНІЮ ЦИТРАТУ**

¹Інститут біології тварин НААН

вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

²ДНДКІ ветпрепаратів і кормових добавок

вул. Донецька, 11, м. Львів, 79000, Україна

e-mail: khrabko95@gmail.com

Khrabko M., Tesarivska U., Tsap M., Koleschuk O. DEVELOPMENT OF MALE RATS F₂ ORGANISMS AND INDICATORS OF IMMUNOPHYSIOLOGICAL STATE AT DIFFERENT DOSES OF NANOGERMANIUM CITRATE. It has been established that the stimulating effect of different doses of germanium citrate caused the increase in the body weight, growth and immunological reactivity of F₂ male rats. The more expressed biological effect of Ge citrate at a dose of 10 mg/kg body weight has been noted.

Біологічна активність органічних сполук германію характеризується широким спектром імуностимулюючої, антиоксидантної, антигіпоксичної та гепатопротекторної дії. Це сприяло розробленню на основі сполук германію низки препаратів, які застосовуються у медицині, біології та ветеринарії. Однак, вивчення біологічної дії карбоксилатів германію, отриманих методом нанотехнології, розпочато в останні роки. Тому метою дослідження

було порівняльне вивчення впливу тривалого вipoювання різних доз нано-Ge цитрату на розвиток організму та імунофізіологічні показники крові самців щурів F₂.

Дослідження проведені на білих лабораторних щурах-самцях F₂, сформованих у чотири групи: I – контрольна, отримувала стандартний раціон (CP). Тварини II–IV (дослідних) груп отримували CP і нано-Ge цитрат (HGeЦ) з водою у таких кількостях: 10, 20 та 200 мкг Ge/кг маси тіла. Надходження HGeЦ в організм самців щурів F₂ дослідних груп тривало від народження до 4-місячного віку. Результати проведених досліджень вказують на не однаково виражену біологічну дію різних доз HGeЦ, що характеризується змінами показників інтенсивності росту та розвитку організму й окремих внутрішніх органів, вірогідно вираженими відмінностями гематологічних та імунобіологічних показників крові у віці 2 і 4 місяці. Вipoювання різних доз HGeЦ зумовлювало більше виражену стимулюючу дію на приріст маси тіла впродовж 120 діб для самців, які отримували 10 мкг Ge. Вищі дози HGeЦ у кількості 20 і 200 мкг відзначались нижчими показниками інтенсивності росту порівняно з контролем. У той час як ріст і розвиток внутрішніх органів за їх масою та коефіцієнтами мас за дії 10 мкг вказують на нижчі показники маси легень, печінки, серця, нирок та селезінки, а також коефіцієнтів їх маси порівняно до контрольної групи.

Відзначено вірогідне зменшення кількості лейкоцитів і лімфоцитів у крові тварин 4-ох місячного віку, яким вipoювали 10 мкг HGeЦ, у той час як у 2-ох місячному – залишались в межах контрольної групи. Характерно, що за дії 20 і 200 мкг Ge у віці 4 місяці відстежувалась тенденція до зменшення кількості лейкоцитів, лімфоцитів, моноцитів та гранулоцитів, на тлі зростання кількості тромбоцитів. Рівень імуноглобулінів вірогідно збільшувався за вipoювання 20 мкг Ge у 2 та 4-ох місячному віці, тоді як за дії 200 мкг Ge – тільки у 2-ох місячних тварин. Ці зміни підтверджуються вірогідним зменшенням молекул середньої маси у крові самців всіх дослідних груп у віці 2 місяці. Прослідковується вірогідне зростання вмісту ЦІК у крові самців всіх дослідних груп у двох вікових періодах, що корелює з вірогідним зростанням рівня гексоз, зв'язаних з білками в 2-ох місячних тварин, а також 4-ох місячних за дії 20 і 200 мкг Ge порівняно до контролю. Дія Ge характеризувалась вірогідним зростанням рівня церулоплазміну у крові 2-місячних самців порівняно до контрольної групи, проте у 4-місяці такі відмінності відзначені лише для вищої дози (200 мкг) HGeЦ. Отже, біологічна дія різних доз HGeЦ у самців щурів характеризується не однаково вираженими змінами інтенсивності росту та розвитку організму, а також рівня гематологічних та імунофізіологічних показників крові.

Якубовська А., Шевцова К., Іккерт О., Манько В. В.

**ВПЛИВ КАЛІКСАРЕНІВ C-136, C-137, C-138, C-1011, C-1012
НА ДИХАННЯ МІТОХОНДРІЙ ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ**

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

e-mail: vvmanko@gmail.com

Yakubovska A., Shevtsova K., Ikkert O., Manko V.V. CALIXARENES C-136, C-137, C-138, C-1011, C-1012 INFLUENCE ON RESPIRATION RATE OF RAT HEPATOCYTES MITOCHONDRIA. Effect of calixarenes C-136, C-137, C-138, C-1011, C-1012 (2.5, 5, 10 μM) on respiration rates and oxidative phosphorylation of isolated rat hepatocytes mitochondria upon succinate (0.35 mM), α-ketoglutarate (1 mM) or glutamate (0.35 mM) with pyruvate (0.1 mM) oxidation was investigated. Consequently, calixarenes C-136, C-137, C-138, C-1011, C-1012 did not influence the processes of mitochondrial respiration.

Останнім часом все більше уваги дослідники приділяють каліксаренам – макроциклічним сполукам, які є перспективним матеріалом для наномедицини. Біовипробування

ряду модифікованих каліксаренів показали, що вони практично не проявляють токсичної дії на клітини, тому їх можна розглядати як перспективні молекулярні платформи для дизайну фізіологічно-активних сполук – різноманітних ліків, модуляторів кальцієвих каналів, інгібіторів ензимів. Зокрема, показано що каліксарени, впливають на системи активного транспортування іонів Ca^{2+} (у мітохондріях, саркоплазматичному ретикулумі та плазматичній мембрані) клітин міометрію, гіперполяризують мембрану мітохондрій міометрію, інгібують Na^+ , K^+ -АТР-азу плазматичної мембрани міометрію.

Зважаючи на те, що печінка є центральним органом детоксикації ксенобіотиків, а з іншого боку – наявність великої кількості мітохондрій зумовлює важливу роль у процесах енергетичного забезпечення, яке може модулюватись каліксаренами, ми досліджували вплив каліксаренів C-136, C-137, C-138, C-1011 та C-1012 у концентраціях 2,5, 5 та 10 мкмоль/л на швидкість дихання мітохондрій печінки щурів.

Досліди виконані на білих лабораторних щурах-самцях. Після декапітації під ефірним наркозом печінку видаляли і отримували мітохондрії гепатоцитів щурів методом диференційного центрифугування. Швидкість споживання кисню визначали полярографічним методом за окиснення сукцинату (0,35 ммоль/л), α -кетоглутарату (1 ммоль/л), (глутамату 0,1 ммоль/л) з піруватом (0,35 ммоль/л). Дихання стимулювали додаванням до полярографічної комірки АДФ (кінцева концентрація у комірці 200 мкмоль/л). Показники перераховували на вміст білка, який визначали за Лоурі.

У результаті досліджень встановлено, що показники мітохондріального дихання та окисного фосфорилування були статистично достовірно вищими за окиснення сукцинату порівняно з окисненням α -кетоглутарату. Додавання у полярографічну комірку каліксаренів C-136, C-137 і C-138, C-1011, C-1012 у концентраціях 2,5; 5 та 10 мкмоль/л не впливало на процеси споживання кисню мітохондріями гепатоцитів за окиснення сукцинату та α -кетоглутарату. Оскільки при додаванні каліксарену C-136 (10 мкмоль/л) за окиснення α -кетоглутарату спостерігалась тенденція до зниження споживання кисню мітохондріями, то для розуміння впливу каліксаренів на окиснення НАД-залежних субстратів, ми використали суміш глутамату з піруватом. Однак, і за окиснення цих субстратів змін процесів мітохондріального дихання та окисного фосфорилування каліксарен C-136 у досліджуваних концентраціях не зумовлював.

Отже, каліксарени C-136, C-137, C-138, C-1011, C-1012 у концентраціях 2,5, 5 і 10 ммоль/л не впливають на процеси мітохондріального дихання та окисного фосфорилування гепатоцитів, тому можуть бути використані як платформи для розроблення та вдосконалення фізіологічно-активних сполук у біологічних і медичних дослідженнях.

Kocherova I.¹, Marędziak M.¹, Marycz K.^{1,2}

THE EFFECT OF *ENTEROMORPHA PROLIFERA* WATER EXTRACT AND TRIVALENT CHROMIUM ON ADIPOSE-DERIVED MESENCHYMAL STROMAL STEM CELLS ISOLATED FROM EQUINE METABOLIC SYNDROME AFFECTED HORSES

¹ Wrocław University of Environmental and Life Sciences
Chelmonskiego 38 C, 50-630 Wrocław, Poland

² Wrocław Research Centre EIT+, Stabłowicka 147, 54-066 Wrocław, Poland
e-mail: krzysztofmarycz@interia.pl

Equine metabolic syndrome (EMS) is an endocrine disease characterized by increased adiposity, insulin resistance, and local or systemic inflammation. EMS was shown to affect the regenerative potential of mesenchymal stem cells that reside within adipose tissue (EqASC), thus limiting the effectiveness of their possible application in veterinary medicine clinical practice. Treatment of EMS mainly focuses on diet and exercise interventions to address obesity. The application of dietary supplements may become a promising tool in prevention and management of

impairments caused by EMS. One of the most popular supplements used in such pathophysiological conditions as hyperglycaemia, is trivalent chromium, which is thought to improve glucose metabolism. Supplementation with plant-derived compounds is another prospective approach regarding the high availability and low toxicity of natural feed additives. There is an increasing number of evidence that bioactive compounds found in seaweeds exert positive effects on health due to their antihyperglycemic, hypolipidemic and antioxidative activities. Moreover, seaweeds may become previously enriched in different minerals by the process of biosorption, which increases their nutritional value and therapeutic properties.

In our study, we investigated the effect of marine alga *Enteromorpha prolifera* (EP) water extract and trivalent chromium on EqASCs isolated from subcutaneous adipose tissue, which was collected from the tail base of six horses suffering from EMS. Prior to the experiment, EqASCs were passaged three times and then divided into four experimental and one control group. The cells of the first group were cultured in the medium with addition of water extract prepared from dry biomass of normal EP, whereas the cells of the second group were cultured in the medium with addition of the extract obtained from EP enriched with chromium (III) nitrate nonahydrate by biosorption process. Into the culture medium of the third group was added chromium (III) nitrate nonahydrate solution, and finally, the fourth group was cultured in the medium with organic form of chromium (chromium picolinate), which recently is more often used in dietary supplements and considered to be more bioavailable. The control of the experiment consisted of EqASCs cultures without addition of algal extract and chromium solution. We have tested three concentrations of chromium – 0,1 μM , 0,5 μM and 1 μM . Metabolic activity and the number of cells were evaluated with resazurin-based assay (TOX-8) after 48 h of culture. Additionally, proliferation rate and population doubling time (PDT) were assessed. The concentration of chromium of 0,5 μM exerts the greatest positive effect on these parameters in comparison to control group and was chosen for further analyses. The best results, which mean the greatest number of cells, the highest proliferation rate and the lowest PDT, were observed in the group of ASCs cultured in the medium with addition of extract from EP enriched in chromium ($P < 0.05$). Then the proliferative activity of the cells was determined by BrdU incorporation analysis. The highest proliferative activity was achieved in medium with EP enriched in chromium ($P < 0.05$). We also conducted Ki-67 nuclear immunostaining in each group of cells, and the highest proliferative index was observed in EqASCs cultured in medium with chromium (III) nitrate nonahydrate and EP enriched in chromium. Thus, our study revealed the highest proliferation-promoting effect of extract from EP enriched in chromium on EqASCs isolated from EMS horses.

Luchkova A., Goshovska Yu., Mys L., Strutynska N., Sagach V.

INHIBITION OF H_2S SYNTHESIS IN MITOCHONDRIA REDUCED CARDIAC
CONTRACTILE FUNCTION AND INCREASES MITOCHONDRIAL PERMEABILITY
TRANSITION PORE (MPTP) OPENING UNDER Ca^{2+} OVERLOAD IN RAT HEART

*Bogomoletz Institute of Physiology
4 Bogomoletz str., Kyiv, 01024, Ukraine
e-mail: a.luchkova@biph.kiev.ua*

Hydrogen sulfide (H_2S) is one of the three biological gaseous mediators, which takes part in regulation of variety of functions in cardiovascular system. H_2S is produced enzymatically by three different enzymes: cystathionine β -synthase (CBS), cystathionine γ -lyase (CSE), and 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase (3-MST), which works in tandem with cysteine aminotransferase (CAT). Because of the fact that last two enzymes are located in mitochondria and oxidation of H_2S also takes place in mitochondria, it becomes clear that H_2S , produced in these organelles, takes a great role in the heart and vascular functions regulation. For heart cells mitochondria are extremely important organelles because of their energy production. However cal-

cium overload can induce opening of the permeability transition pore (MPTP) – the structure between two mitochondrial membranes that is a key player in apoptosis development. Earlier we have shown that H_2S prevents MPTP opening if it was used exogenously. However little is known about the impact of mitochondrial origin hydrogen sulfide on heart resistance to calcium overload and the sensitivity of MPTP to this cation.

To investigate the role of H_2S , produced in mitochondria, in cardiac function under calcium overload and in Ca^{2+} -induced MPTP opening in rat hearts.

In our work we used adult (5–7 months) Wistar rats. Cardiodynamic parameters such as left ventricular pressure (LVP), dp/dT , heart rate, coronary flow and oxygen consumption were registered using Langendorf isolated rat heart. Calcium load was carried by adding of $CaCl_2$ in perfusion solution every 10 minutes until the concentration of calcium increased from 1,7 to 12,5 mmol/l. Rat heart mitochondria were isolated using differential centrifugation method. MPTP opening was registered spectrophotometrically as mitochondrial swelling.

It was shown that inhibition of mitochondrial H_2S -synthesis enzyme had a negative influence on initial cardiodynamic parameters. In particular, the left ventricle pressure (LVP) decreased twice (48 mmHg in experimental group compared to 97 mmHg in control group) and the rate of contraction and relaxation of myocardium also reduced by half. Coronary blood flow decreased by 1,12 times, while the heart rate was tended to increase. We found that the hearts of experimental animals developed less powerful reaction under the calcium overload that manifested in reduced parameters of LVP, coronary flow and heart work intensity. The inhibition of 3-MST by O-CMH (in vitro and in vivo) causes significantly dose-dependent increase of Ca^{2+} -induced mitochondrial swelling in adult rat heart. The highest concentration of inhibitor (10–3 mol/l) that were used increased this parameter by 2,3 times.

H_2S , which was synthesized in mitochondria has the great impact on regulation of cardiac functions, in particular on cardiac resistance to Ca^{2+} overload and on calcium-induced MPTP opening in rat heart.

Nisio E.

THE ROLE OF UDP-GLUCURONOSYLTRANSFERASES (UGT) POLYMORPHISMS IN DRUGS METABOLISM AND DETOXIFICATION

*University of Zielona Gora, Faculty of Biological Sciences
ul. Szafrana 1, 65-516, Zielona Góra
e-mail: ewelinanisio@gmail.com*

Human UDP-glucuronosyltransferases (UGT) are group of 22 proteins divided into 5 families and 6 subfamilies because of their amino acid composition. UGT1A and UGT2B subfamilies of enzymes play key role in formation of biological processes, especially increasing the excretion of all classes of nonpolar xenobiotics by kidneys. The basic role of UDP-glucuronosyltransferases is catalyzing reactions of conjugation of xenobiotics and hydrophobic metabolites with glucuronic acid in process called glucuronidation. The substrates of UGT are bilirubin, steroid and thyroid hormones, bile acids and endogenous substances: drugs (including many anticancer drugs), components of cigarette's smoke, some harmful compounds and food components. The conjugation of xenobiotics with glucuronic acid increases their solubility and enables excretion of hydrophilic conjugates.

Particularly, important UGT's function is biotransformation of drugs, especially those, which are commonly used in life saving therapies in oncological treatment. The presence of nucleotides changes in genes coding proteins UGT1A and UGT2B leads to a differences between individuals in ability to bind glucuronic acid, recognition of the substrate or ability to make effective catalysis. The impairment of drugs metabolism leads to increase of their toxicity and loss of their therapeutic properties.

In the framework of the analysis the current state of knowledge regarding documented substrates of UGT1A and UGT2B and moreover SNP changes in encoding genes which alter their activity is summarized. Based on current literature reports, scientists described 96 examples of different active substances which are substrates for UGT1A and UGT2B enzymes. These data were collected and summarized, this new information should find practical application in planning the pharmacotherapy of patients.

Sirocka I., Protokowicz K., Ptaszek K.

THE CONTRIBUTION OF THE RAPHE MAGNUS
IN THE CONTROL OF THE RATS BEHAVIOURS

*Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Gdansk
Wita Stwosza 59, 80-308, Gdansk, Poland
e-mail: iwona.sirocka@gmail.com*

Serotonin (5-HT), as a neurotransmitter, has a lot of different and complex influences on organism. In the central nervous system, 5-HT is involved mainly in the regulation of mood, social behaviour, sleep and learning. In the periphery, it affects muscle tone and motor output, peristalsis and immune signalling [Harrington et al., 2013]. In the central nervous system, fibres which are immunoreactive to 5-HT are widely distributed. Nevertheless, the cells which produce 5-HT are found only in the restricted areas of the brain, namely raphe nuclei, which are located from the midbrain to the medulla. One of them is the raphe magnus (RMg) located in the B3 region (caudal area of the raphe nuclei) which has projection pathways mainly to the spinal cord [Hornung, 2003].

The aim of this study was to analyse the connection between behaviours evoked by the electrical stimulation of the RMg and the distribution of the total numbers of 5-HT positive cells per different structure in the brain, especially in areas connected with behaviours.

The experiment was conducted on male Wistar rats (3-months old). Animals were implanted with electrodes into the RMg under isoflurane anaesthesia. After 10-day convalescence, 16-day electrical stimulation was performed. Rats were divided into stimulated ($n = 6$) and non-stimulated ($n = 7$) groups. Every day, each animal had 25 stimulation trials (30-s stimulation followed by 20-s break). One hour after the last stimulation, rats were sacrificed, their brains were perfused and removed. After dehydration and freezing, the brains were cut into 30 μm thick sections and collected slices were stained during immunofluorescence procedure. Images were taken by fluorescent microscope (PrimoStar, Carl Zeiss, Germany) and processed using the imaging software (Axio Vision).

The whole project is connected with looking for the link between 5-HT and Autism Spectrum Disorder (ASD). For that reason, during stimulation, we focused on social and cognitive abilities as well as on anxiety, behaviours impair in the course of ASD. Working memory, measured in the water maze test, was better after stimulation and in the hippocampus area (structure responsible for the memory) were more 5-HT positive cells ($p < 0.05$) in the stimulated rats. In turn, social behaviours measured in 3 chamber test, were reduced after stimulation and in the amygdala area (in central nucleus which is related with sociability) were less 5-HT positive cells ($p < 0.05$). Despite the anxiety level, analysed as a reaction to the open space in the elevated plus maze test, was comparable between groups, the periventricular nucleus (which plays an important role in the stress reactivity) had more 5-HT positive cells ($p < 0.01$) after stimulation.

In summary, the obtained results indicate that, despite RMg has main projections to the medulla, it has also connections either with rostral group of raphe nuclei (such as dorsal raphe) or directly with the others structures in the brain.

This project has been financed by Polish National Science Centre grant, conferred on the basis of a decision number DEC-2014/15/N/NZ4/04844.

Wyroslak M., Ptaszek K.

THE INFLUENCE OF THE SEROTONERGIC SYSTEM ACTIVATION IN THE BRAIN ON
THE PERIPHERAL IMMUNITY LEVEL IN RATS

*Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Gdansk
Wita Stwosza 59, 80-308, Gdansk, Poland
e-mail: marcinwyroslak95@gmail.com*

5-HT is indol, endogenous amin, present in the tissue of vertebrates, invertebrates and even the plants. In humans, 5-HT is located in the blood platelets, specific intestine cells – called enterochromaffin, and in the brain structure, mainly in the raphe nuclei and pineal gland. 5-HT as a neurotransmitter has a lot of different and complex influences on organism. Peripheral 5-HT (circulating in blood) for instance activates smooth muscles and expands skin blood vesicles. In the brain, 5-HT mainly inhibits the regulation of central nervous system, nevertheless it also plays important role in the emotional processes, locomotor as well as sexual activity [Fidalgo et al., 2013]. On the other hand, the cells which produce 5-HT in the brain are found only in the restricted areas of the brain – raphe nuclei groups which exist from the midbrain to the medulla.

Our previous study indicated that the activation of the raphe magnus (RMg), one of the raphe nuclei located in the B3 region, activate the serotonergic system in the brain as well as significantly reduce the 5-HT level in the blood. It's very interesting, especially, because the blood-brain barrier prevent transfer 5-HT from brain to the blood in the adult organisms. Because we know that 5-HT circulating in the blood play an important role in the activation of the immune cells [Baganz & Blakely, 2013], we would like to analyse that effect in our study.

We performed the experiment on male Wistar rats. Animals were implanted with electrodes into the RMg under isoflurane anaesthesia. After 10-days convalescence 16-days electrical stimulation of the RMg began. Rats were divided into stimulated ($n = 6$) and non-stimulated ($n = 7$) groups. Every day 25 stimulation trials were carried out for each stimulated rat. Blood samples, used for immunological analysis, were collected by heart puncture under anaesthesia one hour after the last stimulation. Next, rats were sacrificed and either spleens or thymuses as well as brains were removed.

As it was mentioned, the electrical stimulation of the RMg decreased the 5-HT level in the blood ($p < 0.05$) measured by ELISA kit (ab133053, Abcam, UK). The total leukocyte number, measured after blood exposition to the Turk's solution, was comparable. Next, the numbers of lymphocytes populations: T (also Th and Tc), B, and NK cells measured via flow cytometry, were also comparable. In turn, the thymus weight was elevated after RMg stimulation ($p < 0.05$). On the other hand, macroscopic changes in the spleen were comparable.

Despite we observed in our experiment that the serotonergic system activation, possible because of the RMg electrical stimulation, affect the peripheral 5-HT, it had weak effect on immune cells. Only the thymus, structure of the body where the process of T lymphocytes maturation undergoes, increased after stimulation. Probably, the activity of the serotonergic system in the context of immunity is control rather during inflammation active peripherally than brain serotonergic system.

This project has been financed by Polish National Science Centre grant, conferred on the basis of a decision number DEC-2014/15/N/NZ4/04844.

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН / PLANTS PHYSIOLOGY**Баграшкіна Т., Пацула О.****ВПЛИВ РЕГУЛЯТОРА РОСТУ РЕГОПЛАНТ НА МОРФОФІЗІОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПРОРОСТКІВ СОНЯШНИКУ ЗА ДІЇ ІОНІВ КАДМІЮ***Львівський національний університет імені Івана Франка**вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна**e-mail: batrashkina@ukr.net*

Batrashkina T., Patsula O. THE INFLUENCE OF GROWTH REGULATOR REHOPLANT FOR MORPHOPHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF SUNFLOWER SEEDS IN CONJUNCTION WITH CADMIUM IONS. Heavy metals contamination of the soil leads to a decrease in yield and increased levels of heavy metals in products. Rehoplant is a mixture of natural bioactive compounds that activate physiological processes in plants. The aim of our research was to determine the effect of this growth regulator Rehoplant to changes in morphophysiological parameters of sunflower seedlings under the influence of cadmium. According to the research Rehoplant growth regulator activates sunflower seedling growth processes in conjunction with cadmium ions.

Однією з екологічних проблем в Україні є забруднення ґрунтів важкими металами, в тому числі кадмієм. Це призводить до зменшення врожаю на сільськогосподарських землях та підвищення вмісту важких металів у продукції.

Останнім часом значного поширення набуло використання регуляторів росту рослин (РРР) – природних і синтетичних сполук, які в малих концентраціях сприятливо впливають на ріст і розвиток рослин. Одним із таких сучасних регуляторів є Регоплант – суміш природних біологічно активних сполук, що активізують фізіологічні процеси в рослині, підвищують стійкість рослин до хвороб, шкідників і стресів, сприяють реалізації генетичного потенціалу рослин, знижують вміст важких металів і радіонуклідів у продукції.

Тому метою наших досліджень було встановити вплив регулятора росту Регоплант на зміни морфометричних параметрів у проростках соняшнику за дії кадмію.

Через 7 днів після закладання дослідів визначали схожість насіння. На 7 та 14 добу вимірювали морфометричні показники проростків соняшнику: довжину коренів і висоту надземної частини рослини, масу сирої речовини. Кількісний вміст фотосинтетичних пігментів визначали фотометричним методом на 14 добу росту.

В результаті проведених досліджень встановлено, що іони кадмію негативно впливають на морфометричні показники проростків соняшнику. За дії регулятора росту Регоплант ці показники досягають контролю і дещо перевищують його. Тому регулятор росту нівелює негативний вплив іонів кадмію.

Результати досліджень вмісту фотосинтетичних пігментів показали, що вплив регулятора росту, кадмію та їх сумісна дія не є однозначними і потребують подальших досліджень.

Отже, регулятор росту Регоплант активує ростові процеси проростків соняшника за сумісної дії із іонами кадмію.

Білан В.¹, Михальська С.²**РЕАКЦІЯ ГЕНЕТИЧНО - МОДИФІКОВАНИХ РОСЛИН КУКУРУДЗИ НА ДІЮ ВОДНОГО СТРЕСУ***¹Київський Національний університет ім.Тараса Шевченка**ННЦ «Інститут біології та медицини»**²Інститут фізіології рослин і генетики НАН України**вул. Васильківська, 31/17, м. Київ, 03022, Україна**e-mail: veronikabilan13@gmail.com*

Bilan V., Mykhalska S. REACTION OF GENETICALLY MODIFIED CORN PLANTS TO ACTION OF THE WATER STRESS. The transgenic corn plants (*Zea mays* L.) with double-

stranded RNA-suppressor of the proline dehydrogenase gene were obtained. These corn plants accumulated the larger amount of the free proline and were resistant to a during short period of dehydration.

На сьогоднішній день основним завданням сучасного сільськогосподарського виробництва є створення сортів та гібридів, які стійкі до абіотичних стресорів. Адаптація рослин до росту в екстремальних умовах представляє собою перебудову метаболізму, яка спрямована на підвищення рівня стійкості. Під час стресу в клітинах рослин накопичуються осмотично активні речовини такі як неорганічні і низькомолекулярні органічні молекули, цукри, пролін та інші амінокислоти. Використання методів генетичної інженерії надає нові перспективи для генетичного покращення культурних рослин.

Одним з перспективних напрямків підвищення рівня стійкості культурних рослин до осмотичних стресорів є генетична інженерія з використанням генів, що контролюють метаболізм вільного проліну (*Pro*). Особливий інтерес представляє ген, що кодує фермент катаболізму проліну проліндегідрогеназу (*ProDH*). Очікується, що часткова супресія цього гена підвищить осмотолерантність рослин шляхом збільшення рівня вмісту *L*-проліну.

Об'єктом дослідження була інбредна лінія кукурудзи 370 (селекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України). Генетичну трансформацію *in planta* проводили в умовах вегетаційного досліду з використанням штаму *Agrobacterium tum. LBA4404*, що несе рBi2E з дволанцюговим РНК- супресором гена проліндегідрогенази арабідопсису (*ProDH*), любязно наданого Кочетовим О.В. (Інститут цитології і генетики СВ РАН, м. Новосибірськ).

Відбір генетично-змінених варіантів проводили за маркерним геном, додаючи в середовище культивування 100 мг/л антибіотику канаміцинсульфату, який блокує роботу гена неоміцинфосфотрансферази. Проростки, які витримували селективний тиск – залишалися зеленими протягом двох пасажів, переносили в умови вегетаційного досліду. Стрес створювали шляхом припинення поливу на 4 доби.

Вміст вільного проліну в тканинах біотехнологічних рослин за нормальних та стресових умов був більший, ніж в контрольних варіантів. При чому, після відновлення поливу вміст амінокислоти у контрольних варіантів знизився майже в два рази в той час, як у рослин з функціональним трансгеном - супресором проліндегідрогенази зниження було суттєво меншим.

Таким чином, проведене дослідження дає можливість зробити висновок, що в біотехнологічних варіантах кукурудзи, які містять дволанцюговий РНК-супресор гена проліндегідрогенази, спостерігається підвищений рівень вільного проліну, який збільшує стійкість рослин до дії нетривалого зневоднення.

Войтків О., Волошанська С., Клепач Г.

БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ ТА АНТИБАКТЕРІЙНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕКСТРАКТІВ *JUNIPERUS COMMUNIS*

Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка
вул. Т.Шевченка, 23, м. Дрогобич, 82100, Україна
e-mail: voitikiv.o@mail.ru

Voitikiv O., Voloshansk S., Klepach G. BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF THE *JUNIPERUS COMMUNIS* EXTRACT. The study examines antibacterial properties of biologically active substances of aqueous and ethanol extracts of *J. communis*. The results showed that the highest activity of antioxidant enzymes (catalase and superoxide dismutase) occurs in autumn, at the time of galberries ripening. The highest content of vitamin C in galberries exists typically in winter. It is shown that aqueous extracts of

the galberries of *J. communis* have bacteriostatic properties and ethanol extracts – antibacterial action on pathogenic strain of *E. coli*.

Незважаючи на бурхливий розвиток хімії і зростання кількості нових, дедалі ефективніших синтетичних лікарських препаратів, антибіотиків, лікарські рослини продовжують займати значне місце в арсеналі лікувальних засобів. Серед відомих лікарських рослин виділяють *Juniperus communis*, який завжди славився своїми лікувальними властивостями, завдяки наявності у його складі чималої кількості різних біологічно активних речовин, які мають протизапальну і антисептичну дію, заспокоюють нервову систему, знімають запальні процеси [Гродзинський, 1992]. Плоди *J. communis* містять вуглеводи, смоли, віск, органічні кислоти, мінеральні солі, ефірні олії із високим вмістом терпенів та інших речовин. У корі переважають дубильні речовини, у листі – вітамін С і фітонциди [Зенков, 1993].

Метою роботи є дослідження біологічно-активних речовин та антибактерійних властивостей водних та спиртових екстрактів шишкоягід *J. communis*. Для виконання поставленої мети нами було зібрано шишкоягоди та хвою природних форм *J. communis* з екологічно чистої території Дрогобиччини (Передкарпаття); проаналізовано сезонну активність антиоксидантних ферментів (супероксидисмутази (СОД), каталази) та вміст вітаміну С у *J. communis*; досліджено антибактерійні властивості водних і спиртових екстрактів *J. communis*, отриманих з шишкоягід природної форми стосовно тест-культури *Escherichia coli*.

Визначено, що активність СОД у досліджених зразках рослин *J. communis* коливається у межах 130–1150 ум. од./г рослинної сировини упродовж літнього, осіннього, зимового сезонів. Зокрема, найвища активність даного ферменту виявляється у шишкоягодах *J. communis* в осінній період – 1148 ум. од./г рослинної сировини, що співпадає з етапом їх дозрівання. З'ясовано, що питома активність каталази у досліджених зразках рослин *J. communis* є 2–6 мкмоль/(хв•мг) білка у літньо-осінньо-зимовий періоди. Зокрема, найвища активність каталази у шишкоягодах *J. communis* спостерігається в осінній період (5, 28 мкмоль/(хв•мг) білка) як і супероксиддисмутази.

Встановлено, що вміст вітаміну С у *J. communis* також виявляє сезонну активність. Найвищий вміст вітаміну С спостерігається у шишкоягодах *J. communis* у зимовий період. Це можна пояснити захисною дією аскорбінової кислоти до зниження температури навколишнього середовища.

Встановлено, що водні екстракти шишкоягід *J. communis* (5 % m/v) володіють бактеріостатичною дією стосовно умовно-патогенного штаму *E. coli*. За об'ємних співвідношень 10:90, 20:80, 40:60 водних екстрактів *J. communis* у середовищах спостерігається достовірне зниження ($p > 0,05$) кількості КУО *E. coli*.

Встановлено, що спиртові екстракти шишкоягід *J. communis* (10 % m/v) володіють бактерицидною дією стосовно умовно-патогенного штаму *E. coli*. За об'ємного співвідношення 10:99 спиртового екстракту *J. communis* у середовищах спостерігається повна відсутність росту колоній *E. coli*.

Гречишкіна С., Ольхович О.

ОЦІНКА ВМІСТУ БІЛКА ТА АМІНОКИСЛОТ У ВОДНИХ МАКРОФІТІВ ЗА ДІЇ
НАНОЧАСТОК МЕТАЛІВ ДЛЯ З'ЯСУВАННЯ СТУПЕНЯ ЇХ ПОШКОДЖЕННЯ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, 01601, Україна
e-mail: svetlanagrechishkina@gmail.com

Hrechishkina S., Olkhovych O. THE EVALUATION OF PROTEIN AND AMINOACIDS CONTENT IN THE WATER MACROPHYTES UNDER THE INFLUENCE OF METAL

NANOPARTICLES FOR THE DAMAGE LEVEL IDENTIFICATION. Proteins and aminoacids content under the influence of metal nanoparticles colloid solutions was determined in seven types of water plants for the damage level identification. The most resisting and fit for the phytoremediation appeared to be *P.stratiotes*, *L. laevigatum* and *V.spiralis*.

Кількість білка є важливим показником не тільки продуктивності, а й життєздатності рослин. Різні білкові сполуки зумовлюють різноманіття захисних реакцій рослин на різні впливи. Ми припустили, що у разі пошкоджуючої дії наночасток металів, вміст і склад білків буде істотно відрізнятися від контрольного варіанту, а за кількісними показниками цих змін можна буде оцінити ступінь пошкодження рослини, її здатність до адаптації й можливість використання з метою фітореMediaції.

Об'єктом дослідження були сім видів водних рослин: *Limnobium laevigatum* (Humb.& Bonpl.ex Willd.)Heine, *Pistia stratiotes* L., *Salvinia natans* (L.) All, *Elodea canadensis* Michx., *Najas guadelupensis* (Spreng.)Magnus, *Vallisneria spiralis* L. та *Riccia fluitans* L. Рослини експонували впродовж 7-ми днів в посудинах на 400 мл, із розрахунку 1 г рослини на 100 мл відстояної водогінної води, в суміші маточних колоїдних розчинів наночасток металів (Mn – 0,75 mg/l, Cu – 0,37 mg/l, Zn – 0,44 mg/l, Ag+Ag₂O – 0,75 mg/l), розведеної в 200 раз. На 7-му добу проводили визначення вмісту білка біуретовим методом та амінокислот методом танDEMної мас-спектрометрії за допомогою мас-спектрометра AB Sciex 2000 з авто-сamplerом Ultimate 3000 (Dionex).

У досліджуваних водних рослин за дії наночасток металів спостерігалось зменшення вмісту білка у п'яти з семи досліджуваних видів. Він залишався сталим лише у *P.stratiotes* (52 мкг/мл) та, навпаки, збільшувався у *V.spiralis* (з 46 мкг/мл до 51 мкг/мл). Можна припустити, що збільшення вмісту білка у *V.spiralis* за дії наночасток пов'язано із синтезом стресових білків. За дії суміші наночасток металів у *N.guadelupensis* вміст досліджуваних амінокислот знизився на 46% (з 112,05 мкМ/г до 60,15 мкМ/г), у *R. fluitans* на 44% (з 104,06 мкМ/г до 58,25 мкМ/г), у *S. natans* на 23% (з 90,08 мкМ/г до 69,59 мкМ/г), у *E. canadensis* на 10% (з 143,92 мкМ/г до 129,4 мкМ/г), а у *P. stratiotes* та *L. laevigatum* на 8% (з 210,65 мкМ/г до 193,77 мкМ/г та з 155,0 мкМ/г до 142,60 мкМ/г, відповідно). У *V. spiralis* вміст досліджуваних амінокислот збільшився на 7% (з 91,31 мкМ/г до 97,59 мкМ/г).

Було проаналізовано зміни у складі та вмісті амінокислот стосовно кожного виду рослини. У *P. stratiotes* знизився вміст 5-ти амінокислот – 5-оксипроліну, аргініну, аспарагінової кислоти, лейцину та серину, залишився сталим – гліцину, гістидину, проліну та збільшився вміст 6-ти амінокислот – аланіну, цитруліну, глутамінової кислоти, метіоніну, орнітину та фенілаланіну. У *L. laevigatum* знизився вміст 9-ти амінокислот, серед яких найбільше – аргініну, аспарагінової кислоти, метіоніну та глутамінової кислоти, залишився сталим вміст гліцину та тирозину та збільшився вміст 5-оксипроліну, аланіну, цитруліну, лейцину, гістидину та серину. У *V. spiralis* збільшилася кількість 8-ми амінокислот, найсуттєвіше аспарагінової кислоти () та валіну (). Одночасно, у *V. spiralis* знизився вміст 8-ми амінокислот, але інших, насамперед орнітину, аланіну та глутамінової кислоти.

Отримані дані показали, що досліджувані рослини, які належать до різних родин, мають різні механізми захисту, відповідно до яких змінюється амінокислотний склад рослин. Серед досліджуваних видів, найстійкішими за показниками білкового обміну, а саме вмістом білка і вмістом амінокислот були плейстофіти *P. stratiotes* і *L. laevigatum* та гідатофіт *V.spiralis*. Таким чином, їх можна рекомендувати для фітореMediaційних заходів.

Доровських М.¹, Даниленко Є.¹, Мегалінська Г.², Рудницька М.³

**ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК КРЕМНІЮ
НА ЕНЕРГІЮ ПРОРОСТАННЯ ДЕЯКИХ РОСЛИННИХ ОРГАНІЗМІВ**

¹Київська мала академія наук

вул. Дегтярівська, 31а, м. Київ, Україна

²Національний педагогічний університет ім. М. П. Драгоманова

вул. Пирогова 9, м. Київ, Україна

³Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України

вул. Терещенківська, 2, м. Київ, Україна

e-mail: anna.megalin@yandex.ua

Dorovskyh M.¹, Danylenko E.¹, Megalincka H.², Pydnytska M.³ THE INFLUENCE OF SILICIUM NANOPARTICLES ON THE GERMINATION ENERGY OF SOME PLANT ORGANISMS. The efficiency of Silicium nanoparticle preparation for increasing of *Pinus sylvestris* L. and *Helianthus annuus* L. seeds germination energy was shown. The optimal concentration of pine seed treatment was 0.035 %, and for sunflower germination it was 0.025 %.

Деградація та забруднення ґрунтових покривів, зниження якості сільськогосподарських продуктів та дефіцит енергоресурсів потребують широкого впровадження нових ефективних методів ведення сільського господарства. В той же час у літературних джерелах актуалізується питання вивчення механізмів впливу наночастинок SiO₂ на ріст і розвиток рослин. За думкою Наперської Д. [Napieriska, 2010] нано-розміри матеріалів надають їм нові функції, змінюючи їх вплив на клітинному рівні.

Метою даного дослідження було вивчення впливу препарату нанокремнію на енергію проростання *Pinus sylvestris* L. та *Helianthus annuus* L.

Сосна звичайна (*Pinus sylvestris* L.) є основною лісотворною породою на Україні. Водночас близько 18% насаджень сосни звичайної перебувають у деградуєму стані і потребують проведення лісовідновлювальних рубок з подальшим залісненням. Однак якісного і в достатній кількості садивного матеріалу в Україні ще не вирощують, а культура *Helianthus annuus* L. є однією з основних сільськогосподарських культур на півдні України.

У наших дослідженнях використовувався препарат, створений у лабораторії клініки інтегративної медицини "СмартМед". Розмір наночастинок SiO₂ у досліджуваному препараті визначали методом фотонної кореляційної спектроскопії на лазерном кореляційном спектрометрі Zeta Sizer-3 (Malvern Instruments, Велика Британія), з корелятором (Multi computing correlator type 7032 ce), обладтаним He-Ne лазером ЛГН-111 із довжиною хвилі 633 нм і потужністю 25 мВт. Отримані результати вимірювань обробляли з допомогою стандартної комп'ютерної програми PCS-Size mode v 1.61. Показано, що розмір частинок у досліджуваному препараті складав від 33 до 80 нм, при цьому 46% частинок в середовищі складають наночастинки діаметром 58 нм.

Як свідчать результати проведеного експерименту енергія проростання насіння сосни складала 80% після обробки 0,07% розчином нанокремнію та 100% після обробки 0,035%. При цьому в контрольному варіанті і при менших концентраціях нанокремнію енергія проростання насіння сосни дорівнювала 50%. Таким чином можна вважати, що препарати нанокремнію в концентрації 0,035% підвищують енергію проростання насіння сосни звичайної на 50%. Аналогічні дослідження енергії проростання насіння соняшника гібрид «Матадор» показали, що при концентрації нанокремнію 0,035% енергія проростання становить 75%, що на 7% більше ніж у контролі. У той же час при обробці нанокремнієм у концентрації 0,023% енергія проростання 93%, що на 25% більше ніж у контролі. Водночас простежується залежність між міцністю шкірястого оплодня сім'янки соняшника, який має менше лігніну, та лігніновмісною насінною оболонкою насіння сосни і оптимальною концентрацією наночастинок кремнію. Оптимальна концентрація наночастинок

SiO₂ розміром 58 нм є 0,023% для соняшника, та 0,035% для сосни. Добрива на основі нанокремнію можна використовувати для підвищення енергії проростання як голонасінних так і дводольних рослин.

Зборівська О., Троценко В., Воробієвська Ж.

**ЗАЛЕЖНІСТЬ МІЖ МАСОЮ СТЕБЛА ГОЛОВНОГО ПАГОНУ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ
В ОКРЕМІ ФАЗИ ВЕГЕТАЦІЇ ТА ЙОГО ЗЕРНОВОЮ ПРОДУКТИВНІСТЮ**

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
вул. Васильківська, 31/17, м. Київ, 03022, Україна
e-mail: masliukivska@mail.ru*

Zborivska O., Trotsenko V., Vorobyievska J. DEPENDENCE BETWEEN THE MASS OF SHOOTS DRY MATTER OF WINTER WHEAT MAIN STEMS AT SEPARATE PHASES OF VEGETATION AND ITS GRAIN PRODUCTIVITY. Dynamics of shoot dry matter accumulation during reproductive period and ear grain productivity in plants of modern varieties of winter wheat were investigated. A close positive correlation between the mass of shoot dry matter of plants at the anthesis and full ripeness phases and grain weight ($r=0.55-0.93$) for various weather conditions observed. These data suggest that one of the reserves for increase in wheat grain productivity is high deposited ability of stem at the anthesis phase.

Збільшення зернової продуктивності озимої пшениці, що відбулося в ході «зеленої революції», було пов'язано із вкороченням стебла та перерозподілом біомаси на користь господарсько-цінної [Richards, 2000]. Разом з тим, у зв'язку із зменшенням висоти рослин їх надземна біомаса або зменшилася, або залишилася на тому ж рівні [Применение физиологии, 2007]. Водночас, у сучасних сортів пшениці можливість підвищення врожайності за рахунок збільшення частки зерна у загальній біомасі рослини ($K_{\text{госп}}$) вважають вичерпаною, оскільки вона вже досягла близьких до максимально можливих значень [Reynolds et al., 2011]. Припускають, що ще одним можливим резервом збільшення зернової продуктивності може бути зростання загальної біомаси рослини за збереження нинішніх значень $K_{\text{госп}}$ [Parry et al., 2011; Derkx et al.; 2012]. Тому питання за рахунок чого може бути досягнуто збільшення біомаси набуває особливої актуальності. Метою даної роботи була оцінка впливу накопичення біомаси головного пагону рослин сучасних сортів озимої пшениці в окремі фази вегетації на їх зернову продуктивність.

Методика. Об'єктами дослідження слугували сорти та лінії озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) селекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України, які вирощували в польових умовах (сmt. Глеваха, Київська обл.) в 2014 (ГТК червня = 0,99) та 2016 (ГТК червня = 0,24) рр. Відбір рослин для визначення морфометричних показників проводили протягом періоду від фази видовження стебла (SG 30) до молочно-воскової стиглості (SG 85). Складові структури врожаю визначали у фазу повної стиглості (SG 99).

Результати та обговорення. Маса сухої речовини стебла головного пагону рослин коливалась у широких межах: у фазу цвітіння від 0,56 до 1,18 г у 2014 р. та від 1,05 до 2,09 г у 2016 р., а у фазу повної стиглості, відповідно, від 0,46 до 1,00 г та від 0,80 до 1,48 г. Найбільш високими її значеннями у обидві фази відрізнялися сорти Астарта, Дарунок Поділля, Достаток у 2014 р. та Дарунок Поділля, Астарта, Наталка, Райгородка, Чигиринка у 2016 р. Найменша маса зерна колоса головного пагона у 2014 р. становила 0,89 г, найбільша – 2,20, у 2016, відповідно 1,48 та 2,55 г. Максимальні її значення у 2014 р. спостерігали у сортів Дарунок Поділля, Достаток, Фаворитка та Переяславка (1,8-2,2 г), у 2016 – у сортів Дарунок Поділля, Астарта, Наталка, Райгородка та Ятрань 60 (2,1-2,5 г). Кореляційний аналіз показав наявність тісного позитивного зв'язку між масою сухої речовини стебла головного пагона рослин у фази цвітіння та повної стиглості зерна з масою зерна з його колосу у

обидва роки. При цьому коефіцієнти кореляції у фазу цвітіння були більшими (в 2014 р. $r=0,77$, в 2016 - $0,93$) ніж у фазу повної стиглості (відповідно, $r=0,55$ та $0,77$). Це свідчить, що підтримання зернової продуктивності головного пагону на високому рівні в значній мірі залежало від накопичення асимілятів у його стеблі протягом періоду вегетаційного розвитку рослин. Отже, депонувальну здатність стебла сучасних інтенсивних сортів озимої пшениці можна розглядати як один з резервів підвищення їх зернової продуктивності, особливо за посушливих умов.

Коваль Ю., Коваленко М., Свєтлова Н., Таран Н.

**ВПЛИВ ПОЛІЕТИЛЕНГЛІКОЛЬ-ІНДУКОВАНОЇ ПОСУХИ
НА РОСТОВІ ПРОЦЕСИ ПШЕНИЦІ НА РАННІХ ЕТАПАХ ОНТОГЕНЕЗУ**

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

ННЦ «Інститут біології та медицини»

вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, 01601, Україна

e-mail: yuliakoval1995@gmail.com

Koval Yu., Kovalenko M., Svetlova N., Taran N. EFFECT OF POLYETHYLENE GLYCOL-INDUCED DROUGHT STRESS ON EARLY SEEDLING GROWTH OF WHEAT. The effect of drought stress by using polyethylene glycol on early seedling growth of wheat varieties was investigated. Drought stress at different osmotic potentials was adjusted using PEG 6000. In PEG 6000 solution, the hypocotyl lengths of seedlings decreased with an increase in water stress. Varieties with contrasting drought tolerance were selected and will be used for further research.

Посуха як потужний стресовий фактор індукує фізіологічні та морфологічні зміни в рослинному організмі, що може зумовлювати редукцію вегетативної та генеративної продуктивності, а іноді призводити до загибелі рослин. У контексті глобальних змін клімату, що супроводжуються зменшенням кількості опадів та підвищенням середньорічної температури, дослідження механізмів посухостійкості рослин є одним з ключових завдань сучасної фізіології рослин. Адаптація рослин до умов посухи являє собою складну та скоординовану відповідь, одним з механізмів реалізації якої є формування осмотичного стресу [Hussain et al., 2014].

Для оцінки посухостійкості сільськогосподарських культур у лабораторних умовах широко використовуються методи, що ґрунтуються на визначенні проростання насіння та накопичення вегетативної маси проростків на розчинах осмолітиків, що імітують водний дефіцит [Aydin et al., 2015; Fritz, 2011]. З цією метою оптимальним є використання поліетиленгліколю, як компоненту поживного середовища. Поліетиленгліколь є інертною неіоногенною синтетичною полімерною сполукою і на відміну від таких осмолітиків, як сахароза та манітол, не поглинається рослиною [Aydin et al., 2015]. Застосування поліетиленгліколю в модельному досліді дозволяє підтримувати стандартний водний потенціал в середовищі, чого неможливо досягти при використанні піщаної культури.

Метою даної роботи було здійснення підбору оптимальної концентрації поліетиленгліколю для скринінгу сортів пшениці за рівнем посухостійкості.

Проведено фізіологічну оцінку посухостійкості дев'яти сортів озимої м'якої пшениці, а саме сортів Краєвид, Столична (ННЦ «Інститут землеробства НААН»), Магістраль (Приватне сільськогосподарське селекційно-дослідне підприємство «БОР»), Золотокола, Фаворитка, Подолянка, Смуглянка, Трипільська (Інститут фізіології рослин і генетики НАН України), Мудрість одеська (Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення) та полби ярої сорту Голіковська (Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України) за морфометричними показниками рослин на ранніх

етапах онтогенезу. Вимірювання проводили на 3-денних проростках, вирощених на фільтрувальному папері в середовищі з концентрацією поліетиленгліколю 6000, що відповідає осмотичному тиску від -0.1 до -0.7 МПа. Підбір концентрацій поліетиленгліколю здійснювали відповідно до наявного в науковій літературі алгоритму розрахунку осмотичного потенціалу середовища [Michel, Kaufmann, 1973]. Така тест-система використана з метою ранжування сортів за їх посухостійкістю. Згідно аналізу отриманих результатів було відібрано сорти, контрастні за посухостійкістю, що використовуватимуться для подальших досліджень. Було показано, що 50% інгібування росту рослин відбувається за осмотичного тиску -0.3 МПа.

Лупак О.¹, Клепач Г.², Антоняк Г.³

**АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ ЕНЗИМІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ РОСЛИН
СОРТУ *MATRICARIA RECUTITA* L. ЗА ВПЛИВУ БІОСТИМУЛЯТОРІВ**

¹Львівський національний аграрний університет
вул. Володимира Великого, 1, м. Дубляни, 30831, Україна

²Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка
вул. Т. Шевченка, 23, м. Дрогобич, 82100, Україна

³Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: oksana_lupak@ukr.net

Lupak O., Klepach H., Antonyak H. SOME ENZYMES ACTIVITY OF ANTIOXIDANT PROTECTION OF PLANTS *MATRICARIA RECUTITA* L. VARIETY UNDER THE INFLUENCE OF BIOSTIMULANTS. The aim of this work was study the activity of enzymes of antioxidant protection of natural and cultural forms *Matricaria recutita* L. a variety «Perlyna Lisostepy», cultivated under conditions of the Precarpathians. It is shown, that *Matricaria recutita* plants, grown under the influence of biostimulants are characterized by higher productivity and well balanced system of antioxidant protection comparing with control. The best results were obtained in the variant with applying biostimulant «Vermibiomag».

Matricaria recutita L. – цінна лікарська рослина, яку використовують в офіційній, народній та нетрадиційній медицині завдяки наявності природних антиоксидантів, ефірних олій та інших біологічно активних метаболітів, що зумовлюють протизапальну, антисептичну, спазмолітичну, пом'якшувальну, жовчогінну, в'язучу дію рослини [Ковальов, 2000]. Вміст цих речовин у лікарській сировині за умов культивування значно залежить від генетичних особливостей сорту та ґрунтово-кліматичних умов. З метою підвищення стійкості лікарських рослин до дії різних стресорів, під час культивування рекомендують вносити біостимулятори росту рослин [Пономаренко, 2003; Лупак, 2012]. Важливою властивістю рослин є їхня здатність до індукції ензимів та деяких метаболітів антиоксидантного захисту у стресових умовах, які дають змогу клітині уникнути токсичної дії вільних радикалів [Косаківська, 2003; Майор, 2011].

Метою роботи було вивчення вмісту ензимів антиоксидантної системи природної та культурної форм *M. recutita* сорту «Перлина Лісостепу» за вирощування в умовах Передкарпаття із застосуванням біостимуляторів росту. Робота виконана упродовж 2015 - 2016 рр. Рослини природної форми *M. recutita* збирали на території Передкарпаття з екологічно чистої ділянки. Рослини культурної форми *M. recutita* сорту «Перлина Лісостепу» вирощували на начальньо-дослідній ділянці Дрогобицького державного педагогічного університету ім. І. Франка за дворазового внесення біостимуляторів «Вермібіомаг», «Вермійодіс», «Вермистим». Для оцінки впливу стимуляторів визначали врожайність рослин культурної форми *M. recutita*; досліджували активність ензимів антиоксидантного захисту – супер-

оксиддисмутази (СОД), пероксидази, каталази та поліфенолоксидази (ПФОХ) у клітинах квіток природної й культурної форм *M. recutita*, оскільки саме квітки рослини є офіційною сировиною, яку використовують у лікувальній практиці та фармацевтичній промисловості.

Під час досліджень встановлено, що рослини культурної форми *M. recutita*, вирощені за внесення «Вермибіомагу» характеризуються вищою врожайністю порівняно з рослинами контрольного варіанту (вирощені за відсутності стимуляторів). За умов внесення цього біостимулятора активність СОД у екстрактах квіток *M. recutita* була вищою ($p \leq 0,05$) у 6,5 разів порівняно з контролем. Та у 1,69 і 1,82 рази вищою порівняно з рослинами, вирощеними за внесення «Вермийодісу» і «Вермистиму», відповідно. Ці показники також були близькими до активності СОД у рослин природної форми *M. recutita*. Поліфенолоксидазна активність була вищою у рослин із внесенням біостимуляторів порівняно з контролем у 6,49 - 8,67 разів, а також була близькою до активності ПФОХ у рослин природної форми *M. recutita*. Каталаза й пероксидаза виявлялась у мінімальних кількостях.

Отже, отримані результати свідчать, що внесення біостимуляторів, особливо Вермибіомагу» під час культивування *M. recutita* сприяє підвищенню врожайності та збалансованості системи антиоксидантного захисту порівняно з рослинами контрольного варіанту.

Лопухова М., Якуба І., Паузер О.

**ВОДОУТРИМУЮЧА ЗДАТНІСТЬ ЛИСТЯ ВИНОГРАДУ
СОРТІВ АРОМАТНИЙ ТА КАБЕРНЕ СОВІНЬОН ЗА ДІЇ ПРЕПАРАТУ АГРОМАР**

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Шампанський пров., 2, м. Одеса, 65058, Україна
e-mail: mar.lopuhowa@yandex.ua

Lopukhova M., Yakuba I., Pauzer O. WATER-RETAINING ABILITY OF GRAPE LEAVES VARIETY AROMATNIY AND CABERNET SAUVIGNON UNDER ACTION OF AGROMAR The article presents the results of experiments of the effect of foliar treatments of grape plants variety Aromatniy and Cabernet Sauvignon by biofungicide AgroMar on water-retaining capacity of leaves. The studies established best performance during the growing season. Established that treatment with AgroMar increases the water content in grape leaves tissues.

Однією з основних сучасних тенденцій розвитку рослинництва є збільшення об'ємів виробництва продукції органічного землеробства, що супроводжується збереженням позитивного балансу поживних речовин в агроценозах. Для цього стали застосовувати препарати, що стимулюють ростові процеси рослин, підвищують їх імунітет завдяки формуванню неспецифічної системної стійкості проти збудників хвороб та ряду несприятливих факторів навколишнього середовища, таких як низькі та високі температури повітря та ґрунту. Ці препарати мають широкий спектр дії. Біофугіцид «АгроМар» володіє потрійним біологічним спектром дії: біозахист, біостимуляція і біодобриво. В результаті застосування біопрепарату досягається контроль над захворюваннями, прискорюється мінералізація і гумусоутворення, що сприяє активізації ростових процесів в рослині.

Мета даної роботи - вивчити вплив препарату АгроМар на водоутримуючу здатність листя винограду сортів Ароматний та Каберне Совіньон.

Роботу виконували в 2016 р в лабораторії фізіології відділу розмноження ННЦ «ІВіВ ім. В.Є. Таїрова». Польові досліді проводили на технічних сортах Ароматний та Каберне Совіньон. Формування кущів - горизонтальний двуплечий кордон з одним-двома штаблами висотою 80 см. Схема посадки 3 на 1,5 м. Культура винограду - не укривна без поливу. Агротехнічні заходи були загальноприйняті в даній зоні виноградарства. Розміщення варіантів рандомізоване, повторностей - систематичне, повторність триразова. Кущі відбиралися, рівні за силою росту і елементам плодоношення. Обприскування проводили розчи-

ном АгроМар в концентрації 0,3 л / 10 л води в терміни: за 7-10 днів до цвітіння (I термін), відразу після цвітіння (II термін), на початку дозрівання ягід (III термін) і після дозрівання ягід (IV термін).

Встановлено, що оводненість тканин листків сортів Ароматний та Каберне Совіньон на період вегетації вище від контролю. В період інтенсивного росту рослин винограду обох сортів оводненість була вища в липні, ніж в період затухання ростових процесів в вересні. Водотримуюча здатність обох сортів знаходиться практично на одному рівні. При цьому, вміст легкоутримуючої води був високим у дослідних варіантах, тобто процеси росту йшли дуже інтенсивно. Особливо у сорту Каберне Совіньон. До кінця вегетації вміст легкоутримуючої води знижується у обох сортів, але в дослідних варіантах більш повільно, ніж в контролі, тобто ростові процеси в них були ще на більш високому рівні. Водотримуюча здатність листя винограду сорту Каберне Совіньон в порівнянні з водотримуючою здатністю листя сорту Ароматний за дією препарату АгроМар вища, як в контрольних, так і в дослідних зразках. Водотримуюча здатність контрольних рослин на початку та в кінці вегетації більша на 39 - 12%, а дослідних рослин більша на 165-99%. На завершення вегетаційного періоду всі показники зменшуються у зв'язку з затуханням ростових процесів виноградних рослин.

Таким чином, позакореневі обробки рослин сортів Ароматний та Каберне Совіньон АгроМаром стимулюють зростання кущів і підвищують водотримуючу здатність листя.

Малик Б., Кавулич Я., Кобилецька М.

ВПЛИВ САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ І КАДМІЮ ХЛОРИДУ
НА ВМІСТ ЛІГНІНУ В РОСЛИНАХ ГРЕЧКИ (*FAGOPYRUM ESCULENTUM* MOENCH.)

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: bogdan.malyk@ukr.net

Malyk B., Kavulych Y., Kobyletska M. THE EFFECT OF SALICYLIC ACID AND CADMIUM CHLORIDE ON AMOUNT THE LEVEL OF LIGNIN IN BUCKWHEAT PLANTS (*FAGOPYRUM ESCULENTUM* MOENCH.). The effect of salicylic acid on the level of lignification of buckwheat plants (*Fagopyrum esculentum* Moench.) affected by cadmium chloride was investigated. Increase of the lignification process in cadmium-stressed plants was established. Under the combined influence of stressor and salicylic acid, the synthesis of lignin was also intensive, however, less than during the action of cadmium chloride only. The results confirm stress protective properties of salicylic acid.

Сьогодні багато регіонів страждають від погіршення екологічного стану. Значне місце серед полютантів займають йони важких металів. Відомо, що за несприятливих умов, зокрема під впливом іонів нікелю, свинцю та кадмію, відбувається посилене утворення активних форм кисню, активація перекисного окиснення ліпідів, порушення балансу про- й антиоксидантів, що призводить до перебудови метаболізму. Відповідно посилюється інтерес до можливих способів підвищення стійкості рослин до токсичної дії важких металів. Останніми роками значна увага приділяється ролі гормоноподібних речовин в індукуванні стійкості рослин до різноманітних стресових факторів. До таких сполук належить і саліцилова кислота (СК), яка підвищує стійкість рослин. Встановлено, що СК впливає на генерування активних форм кисню (АФК), активність ферментів антиоксидантної системи, спричинює внутрішньоклітинні зміни в рослинному організмі. Вважають, що перебудови метаболізму, зумовлені СК, мають важливе значення для адаптації рослин до подальших стресових навантажень (Маменко та ін., 2010).

Метою нашої роботи було дослідити вплив СК на лігніфікацію стінок судин рослин гречки за умов забруднення субстрату йонами кадмію. Об'єктом досліджень були рослини

гречки (*Fagopyrum esculentum* Moench.) сорту Рубра, вирощені методом піщаної культури. Попередньо насіння замочували у дистильованій воді (контроль) та 0,05 мМ розчині СК (дослід) протягом п'яти годин, потім пророщували за загальноприйнятою методикою. Кадмієвий стрес моделювали внесенням кадмію хлориду в розрахунку 25 мг/кг субстрату. Локалізацію лігніну визначали за (Овруцька, 2007) на 21-шу добу росту рослин.

Результати проведених досліджень показали, що за дії кадмію хлориду відбувається інтенсивна лігніфікація стінок судин досліджуваних рослин. Із джерел літератури відомо, що важкі метали можуть спричинювати виникнення ознак ксероморфності у рослин (Лихолат, 2013). Пероксидази клітинної стінки беруть участь у процесі біосинтезу лігніну та у пов'язаних з ним реакціях утворення поперечних зв'язань у клітинних стінках (Минибаєва, 2003; Mosel, 1997). Встановлена також участь в утворенні лігніну супероксиддисмутази (Ogawa, 1997). Відомо, що ці ж ферменти відіграють ключову роль у регулюванні окисно-вально-відновного метаболізму в клітинах вищих рослин. Отже, можна припустити, що відкладення лігніну активувалось оксидативним стресом, спричиненим наявністю йонів важкого металу. Окрім цього, процеси, які спричинюють виникнення ксероморфності за дії кадмію хлориду можуть також активувати відкладання лігніну в стінках клітин провідної системи рослин гречки. За дії саліцилової кислоти лігніфікація була менш інтенсивною щодо рослин, які піддавались впливу стресора, але більшою порівняно з контрольними рослинами. За сумісної дії кадмію хлориду і саліцилату, нагромадження лігніну також було доволі інтенсивним, проте меншим, ніж за впливу лише важкого металу. Такий вплив саліцилової кислоти на нашу думку спричинений тим, що вона є сполукою фенольної природи і має спільний шлях синтезу з іншими фенолами, метаболізм яких активується за стресових умов.

Макогоненко С., Баранов В.

**ВПЛИВ РЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ СТИМПО І РЕГОПЛАНТ
НА АКТИВНІСТЬ ПОЛІФЕНОЛОКСИДАЗИ ТА ВМІСТ ФЕНОЛІВ
У ПРОРОСТКАХ СОНЯШНИКА ТА РІПАКУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: mcsofia@ukr.net*

Makogonenko S., Baranov V. EFFECT OF GROWTH REGULATORS STIMPO AND REGOPLANT ON THE CONTENT OF PHENOLIC AND POLYPHENOLOKSIDASE ACTIVITY IN SUNFLOWER AND RAPE PLANTS. Important factor of plant resistance to substrate of waste dumps is the content of phenolic and polyphenoloksidase. The growth regulators Stimpo and Regoplant in constitute concentration decreased activity polyphenoloksidase activity and increase the content of phenolic.

Гірничодобувні комплекси нашої країни, зокрема шахти Львівсько-Волинського вугільного басейну, являють собою техногенно забруднені та екологічно небезпечні райони. На території Червоноградського гірничопромислового району зсипають пусту породу, що утворюється після збагачування вугілля з утворенням породних відвалів. Породи відвалу Центральної збагачувальної фабрики (ЦЗФ) у Сокальському районі Львівської області характеризуються перевищенням вмісту ГДК важких металів та їх сполук, високою кислотністю субстрату та температурою, а також провальною проникністю води, що негативно впливає на ріст та розвиток рослин на даних територіях та здоров'я людей навколишніх сіл, тому існує потреба у рекультиватії цих земель відносно стійкими видами рослин з додатковою обробкою регуляторами росту для підвищення їх стійкості. Об'єктами дослідження були проростки рослин соняшнику та ріпаку, які є проявляють свою стійкість до

умов відвалу, а також є акумуляторами важких металів. Їх ріст та розвиток у цих умовах визначається процесами пристосування, зокрема активністю окисно – відновних ферментів та наявністю речовин з антиоксидантними властивостями.

Поліфенолоксидаза – це ензим, що бере участь у диханні рослин, окислює поліфеноли у рослинах та відіграє важливу роль у адаптивних реакціях до впливу несприятливих природних умов. Тому метою нашої роботи було дослідити вплив регуляторів росту Стимпо та Регопланту (виробництво Агробіотех, Україна) на активність поліфенолоксидази та вміст фенолів у проростків соняшника та ріпаку за росту на витяжках червоної та чорної порід відвалу.

У попередніх дослідженнях було визначено оптимальні для росту проростків концентрації регуляторів росту, а саме для соняшнику: Стимпо у концентрації 0,5 мл/л, Регоплант 0,1 мл/л тоді як для ріпаку - Стимпо 0,1 мл/л, Регоплант 0,25 мл/л з якими і проводили дослідження.

За дії регуляторів росту Стимпо і Регопланту було виявлено зниження активності поліфенолоксидази та відповідно збільшення вмісту фенолів у 14 добових проростках соняшнику та ріпаку, тобто дані регулятори росту частково нівелюють негативний вплив порід у застосованих концентраціях. Збільшення вмісту фенолів може свідчити про те, що вони здатні виконувати роль антиоксидантів при різноманітних стресових умовах, якими і були витяжки із червоної та чорної порід.

Отже результати наших досліджень показали, що дані препарати зменшують активність поліфенолоксидази і одночасно збільшують вміст фенолів, які виступають у ролі антиоксидантів і тим самим підвищують стійкість рослин.

Олійник М.¹, Поронник О.², Мирюта Г.², Мірюта Н.², Парнікоза І.²

**ДЛЯ ТРИВАЛОГО УФ-А ОПРОМІНЕННЯ
НА РОСЛИНИ *DESCHAMPSIA ANTARCTICA* E. DESV. *IN VITRO***

¹ Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01033, Україна
e-mail: 07041990maria@gmail.com

² Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул. Академіка Заболотного, 150, м. Київ, 03680, Україна
e-mail: oksana.poronnik@ukr.net

Oliiynk M., Poronnik O., Myryuta G., Miryuta N., Parnikoza I. PROLONGED UV-A RADIATION EFFECT ON *DESCHAMPSIA ANTARCTICA* DESV. PLANTS *IN VITRO*. Physiological prolonged UV-A radiation effect on *Deschampsia antarctica* genotypes from the maritime Antarctic region was studied. It was shown that different *Deschampsia antarctica* genotypes under standard *in vitro* growth conditions responded differently to UV-A radiation, which is typical for its origin places micro-condition.

Відомо, що щучник антарктичний (*Deschampsia antarctica*) зростає в екстремальних умовах Антарктики за дії багатьох стресових факторів, включаючи жорстке ультрафіолетове (УФ) опромінення, що поділяють на середньохвильове УФ-В (від 320 до 280 нм) та довгохвильове УФ-А (від 400 до 320 нм). Дію УФ-В опромінення на рослини щучника антарктичного раніше досліджували (Taran et al., 2013). Досліджували, також тривалу дію УФ-А опромінення на накопичення фенольних сполук у листках *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn. (Косян, Мусієнко, 2014), де спостерігали достовірне зростання вмісту флавоноїдів. Що було пов'язано авторами з реалізацією захисних механізмів від надмірного УФ опромінення. Ми дослідили реакцію на тривалий вплив УФ-А на рослини щучника антарктичного.

Об'єктом дослідження були рослини п'яти генотипів щучника антарктичного, отримані з природного насіння з різних популяцій Морської Антарктики: 1) о. Дарбо (DAR12); 2) миса Расмуссен (R35); 3) о. Великий Ялур (Y66); 4) о. Скуа (S22); 5) о. Галіндез (Gal/D12-2a). Рослини отримували та вирощували за умов *in vitro* впродовж 1 місяця за методикою (Загричук та ін., 2012). Рослини вирощували в умовах люмінесцентного освітлення при світловому потоці 8000 лк і періоді освітлення світло/темрява 16/8 протягом місяця. Потім рослини опромінювали ультрафіолетовими лампами УФ-А з довжиною хвилі від 400 до 320 нм T5-8WBLB потужністю 224 мкВт/см² разом з освітленням протягом 14 днів. Площу листків визначали за вимірюючи довжину та ширину листків. Біомасу рослин визначали зважуючи надземні частини рослин без коріння. Вміст флавоноїдів визначали спектрофотометрично на спектрофотометрі UV-1800 "Shimadzu" (Японія). Аналіз проводили згідно модифікації (Косян, 1999). Дані статистично обраховані (Поллард, 1982).

У відповідь на тривале УФ-А опромінення спостерігали різну реакцію рослин щучника п'яти досліджених генотипів за всіма параметрами. Раніше виявили, що ці генотипи відрізняються за набором хромосом. Рослини Gal/D12-2a, R35 та S22 виявились диплоїдними, Y66 – триплоїдним, а рослини DAR12 містили додаткові 1-3 В-хромосоми (Navrotska et al., 2014). Так, під дією УФ-А всі три показники зростали у генотипів DAR12 та S22. Генотип R35 відреагував на УФ-А зростанням площі листків рослин на фоні зменшення біомаси рослин та зниження вмісту флавоноїдів у біомасі. У генотипа Gal/D12-2a спостерігали зростання біомаси на фоні зниження площі листків та вмісту флавоноїдів. Тоді як триплоїдний Y66 показав зростання показника вміст флавоноїдів на фоні зменшення біомаси рослин, можливо, за рахунок зменшення площі їх листків.

Таку різну реакцію рослин різних генотипів можна пояснити тільки різним географічним походженням насіння, з якого вони походять, а також різними мікроумовами його дозрівання *in vivo*.

Письменна Ю., Панюта О., Белава В., Таран Н.

ВПЛИВ ІНФІКУВАННЯ *PSEUDOCERCOSPORELLA HERPOTRICHOIDES* (FRON) DEIGHTON НА РОСТОВІ ПРОЦЕСИ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ НА ПОЧАТКОВИХ ЕТАПАХ ОНТОГЕНЕЗУ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

ННЦ «Інститут біології та медицини»

вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, 01601, Україна

e-mail: pismennaya1992@mail.ru

Pysmennaya Y., Panyuta O., Belava V., Taran N. EFFECT OF INFECTION BY *PSEUDOCERCOSPORELLA HERPOTRICHOIDES* (FRON) DEIGHTON ON WINTER WHEAT GROWTH PROCESSES IN THE INITIAL STAGES OF ONTOGENY. Growth is an integral indicator of the physiological status of plants. The apparent response of plants to various unfavorable factors is inhibiting or accelerating growth. The research shows that in the initial stages of infection by *P. herpotrichoides* causes stimulant effects, which affects the morphometric parameters.

Ріст є інтегральним показником фізіологічного стану рослин. Гальмування або прискорення росту – неспецифічна реакція-відповідь рослин на стрес-фактори, є видимою реакцією рослин на дію різні несприятливі чинники [Кошкин, 2010; Терек, 2011].

Метою роботи було встановити сортові особливості впливу інфікування *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton на ростові показники проростків пшениці озимої сортів Ренан та Миронівська 808.

7-добові проростки пшениці озимої інфікували суспензією конідій *P. herpotrichoides* (вихідний титр $5 \cdot 10^4$ КУО /см³). Відбір рослинного матеріалу проводили на 5-ту добу

після зараження. Визначали площу листової пластини [Аникеев, 1961], індекс толерантності (ІТ, %) [Wilkins, 1978] та масу сухої речовини [Паршикова та ін., 2010].

Дослідження морфометричних параметрів проростків пшениці відносно стійкого сорту Renan і сприйнятливої сорту Миронівська 808 показали, що площа листової пластинки інфікованих проростків пшениці обох сортів була більшою, ніж в контрольних зразках. Приріст площі листової пластинки у проростків сорту Renan становив 4%, проти 11% для сорту Миронівська 808, що свідчить про більш суттєву стимуляцію росту проростків сприйнятливої сорту.

Реакцію проростків пшениці на дію патогену оцінювали також за зміною приросту маси та довжини органів і виражали як індекс толерантності.

ІТ за довжиною та масою надземної та підземної частин проростків озимої пшениці сорту Renan виявилися практично рівнозначними.

ІТ для проростків сорту Renan дорівнював 101% за довжиною та 108% за масою надземної частини; 100% за довжиною та 116% за масою підземної частини.

ІТ для проростків сприйнятливої сорту Миронівська 808 становив 108% за довжиною і 91% за масою надземної частини; 112% за довжиною і 85% за масою підземної частини.

Отже, інфікування *P. herpotrichoides* викликає збільшення площі листової пластинки, довжини та маси надземної та підземної частин проростків. Такий позитивний вплив патогена на ростові процеси проростків пшениці можна пояснити гормезисним ефектом досліджуваного титру.

Визначення маси сухої речовини показало, що для сорту Renan цей показник за інфікування не змінювався, тоді як у проростків пшениці сорту Миронівська 808 маса сухої речовини була вищою, ніж у контролі, що узгоджується з даними про те, що *P. herpotrichoides* закупорює провідні тканини рослини, тим самим зменшуючи рівень їх оводненості.

**Подобайло Р., Галка О., Грудіна Н., Кононенко Д.,
Козловський О., Матвієнко Ю.**

**БІОЛОГІЗАЦІЯ ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОЩУВАННЯ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ
СУЧАСНИМ ПРЕПАРАТОМ «ОПТИРОСТ»**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка
ННЦ «Інститут біології та медицини»
вул. Володимирська 64/13, м. Київ, 01601, Україна
e-mail: koshmaric@gmail.com*

Podobailo R., Galka O., Grudina N., Kononenko D., Kozlovskiy O., Matvienko Yu.

The investigation showed the positive effect of «Optyrost» on the early growth and photosynthesis of winter wheat Myronivska 808. The largest increase in wet weight shoots compared with the control one was equal to 21%, dry weight - 12%, for roots - 45% and 12% - correspondingly. The content of pigments in shoots increased: chlorophyll *a* - 34%, chlorophyll *b* - 30%, and carotenoids 19%. So, this will increase productivity and yield.

Сучасні прогресивні технології вирощування сільськогосподарських культур мають забезпечувати отримання високих врожаїв з урахуванням екологічної безпеки продукції. Найперспективнішим напрямком вирішення цієї проблеми передбачається використання концентрованих екологічно чистих органічних добрив, отриманих шляхом переробки гною популяцією каліфорнійського черв'яка. Одним із таких добрив є препарат «Оптирост», який містить цілий комплекс необхідних поживних речовин і мікроелементів, ферменти, вітаміни, фітогормони, гумінові речовини та корисні угруповання мікроорганізмів, що здатні підвищувати природну родючість ґрунтів. Водна витяжка препарату являє собою

світло коричневу рідину зі слабким запахом. Використання препарату є безпечним, як з екологічної точки зору для агроценозів, так і для здоров'я людини.

Досліджено ефективність прикореневого внесення різних доз (2%, 5%, 25%, 50% та 100%) препарату «Оптирост» для вирощування озимої пшениці Миронівська 808. Використовували концентрат препарату трьох різних партій (№ 80.81 та 90). Дослідження проводили у піщаній культурі та польових умовах (грунти було відібрано в господарстві «Зоря» м.Черняхів, Черняхівського району Житомирської області) за оптимальних умов в лабораторному експерименті. Ростові показники визначали за приростом сирої та сухої маси. Вміст пігментів (хлорофілу а та b і каротиноїдів) визначали спектрофотометричним методом за допомогою спектрофотометра «ShimadzuUV-1800» за довжини хвиль 662, 644 та 440 нм та розраховували на 1 г сухої маси.

Встановлено позитивну дію препарату «Оптирост» на процес росту та фотосинтезу у озимої пшениці Миронівська 808. Найбільший приріст сирої маси пагона у порівнянні з контролем дорівнював 21% (2%-вий розчин проба № 81), сухої маси – 12% (5%-вий розчин проба № 81), а кореня, відповідно, – 45% (5%-вий розчин проба № 81) та 12 % (2%-вий розчин проба № 90).

Вміст пігментів в пагонах пшениці збільшився максимально при використанні 5% розчину проби № 90: хлорофілу а на 34%, хлорофілу b – на 30%, а каротиноїдів – на 19%. Це сприятиме збільшенню її продуктивності та врожайності.

Визначено оптимальну дозу використання препарату при прикореневій підкормці для культури озимої пшениці (5%-вий водний розчин препарату).

Сметана Є.¹, Пороннік О.², Мирюта Г.², Мірюта Н.², Парнікоза І.²

**СПЕКТР БІЛКІВ ЛИСТКІВ *DESCHAMPSIA ANTARCTICA* E. DESV. IN VITRO
ЗА ТРИВАЛОГО ВПЛИВУ УФ-А ОПРОМІНЕННЯ**

¹ Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01033, Україна
e-mail: evgeniyasmetana@gmail.com

² Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул. Академіка Заболотного, 150, м. Київ, 03680, Україна
e-mail: oksana_poronnik@ukr.net

Smetana Y.¹, Poronnik O.², Myryuta G.², Miryuta N.², Parnikoza I.² PROTEIN SPECTRUM OF *DESCHAMPSIA ANTARCTICA* DESV. LEAVES IN PROLONGED UV-A RADIATION EXPOSURE CONDITIONS IN VITRO. Physiological prolonged UV-A radiation effect on *Deschampsia antarctica* genotypes from the maritime Antarctic region was studied. It was shown that different *Deschampsia antarctica* genotypes under standard *in vitro* growth conditions responded differently to UV-A radiation, which is typical for its origin places micro-condition.

Щучник антарктичний привертає увагу дослідників як одна з двох видів судинних рослин, що адаптувалась до зростання в суворих умовах Антарктики. Питання адаптивної винятковості цієї рослини досі залишається відкритим (Ozheredova et al., 2015). Ми дослідили вплив тривалої дії довгохвильового ультрафіолетового (УФ-А) опромінення на спектр білків листків рослин різних генотипів щучника антарктичного.

Об'єктом дослідження були рослини п'яти генотипів щучника антарктичного, отримані з природного насіння з різних популяцій Морської Антарктики: 1) о. Дарбо (DAR12); 2) миса Расмуссен (R35); 3) о. Великий Ялур (Y66); 4) о. Скуа (S22); 5) о. Галіндез (Gal/D12-2a). Рослини отримували та вирощували за умов *in vitro* впродовж 1 місяця за методикою (Загричук та ін., 2012). Рослини вирощували в умовах люмінісцентного освітлення

при світловому потоці 8000 лк і періоді освітлення світло/темрява 16/8. Потім рослини опромінювали ультрафіолетовими лампами УФ-А з довжиною хвилі від 400 до 320 нм T5-8WBLB потужністю 224 мкВт/см² разом з освітленням протягом 14 днів. Електрофорез денатурованих білків листків щучника у поліакриламідному гелі проводили за методикою (Побежимова и др., 2004). У роботі використали маркер молекулярної маси білків (Spectra Multicolor Low Range Protein Ladder), який дозволяє визначити білки молекулярною масою 66, 45, 36, 24, 22 і 14 кДа.

Дослід показав індивідуальну реакцію п'яти досліджуваних генотипів на дію УФ-А опромінення на рівні білків. Раніше виявили, що ці генотипи відрізняються за набором хромосом. Так, генотипи Gal/D12-2a, R35 та S22 виявились диплоїдними, Y66 – триплоїдним, а DAR12 містив додаткові 1-3 В-хромосоми (Navrotska et al., 2014). Порівняння спектрів білків листків дослідних та контрольних рослин показало наступний розподіл реакцій на стрес: диплоїд S22 та триплоїд Y66 показали збільшення кількості білка 66 кДа (можливий аналог великого *hs*- шаперону пшениці), тоді як у решти генотипів спостерігали зниження його кількості. Таку ж картину спостерігали на рівні білка масою 45 кДа (аналог *RuBisCO*). Генотипи S22 та Y66 однаково відповіли на УФ-А опромінення зменшенням кількості білків 36 кДа (можливий аналог антифризного білка жита), 24 кДа (можливий аналог шаперону пшениці), 22 кДа (антифризний білок *D. antarctica*) та 14 кДа (можливий аналог малого *hs*- шаперону пшениці). У DAR12, Gal/D12-2a та R35 спостерігали підвищення кількості білка масою 14 кДа, а у S22 та Y66 навпаки – зниження його кількості під дією УФ-А. Рослини Gal/D12-2a та R35 протилежно реагували на стрес на рівні білків 22 та 24 кДа. Їх кількість змінювалась протилежно.

Така індивідуальна реакція рослин на *D. antarctica* стрес може бути пов'язана з різною епігенетичною пам'яттю насіння з якого походять ці генотипи (Чураев, 2006), яке дозрівало в різних мікроумовах Антарктики.

Теглівець С.¹, Баранов В.¹, Шеремета В.²

**ВПЛИВ ОРГАНІЧНИХ СУБСТРАТІВ ЗА ОБРОБКИ ЕЛЕКТРОГІДРАВЛІЧНИМ
УДАРОМ НА МОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ ПРОРОСТКІВ КУКУРУДЗИ**

¹Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна

e-mail: stepehl@gmail.com

²Люблінський університет, Теологічний інститут ім. Й. Більчевського, Польща

e-mail: Vik.sheremeta@gmail.com

**Tehlivets S., Baranov V., Sheremeta V. IMPACT OF ORGANIC SUBSTRATES AFTER
TREATMENT BY ELECTROHYDRAULIC BEAT ON MORPHOMETRIC PARAMETERS
OF MAIZE SEEDLINGS.** Established that treatment of substrate by electrohydraulic beat causes
increasment of lengths and weight of roots and shoots of Zea mays.

Сучасне сільське господарство використовує великі кількості мінеральних добрив, які чинять подвійну негативну шкоду навколишньому середовищу: процес їхнього виробництва є дуже енерго- та матеріалозатратним, що спричиняє негативний вплив на навколишнє середовище ще до безпосереднього внесення добрив у ґрунт. Також, при внесенні добрив за рахунок вимивання опадами спостерігається переміщення мінералів у ґрунтові води, з якими вони розносяться на великі відстані, спричиняючи негативний вплив на довкілля.

В той же час, багато мінеральних речовин знаходяться в ґрунті у формі органічних важкорозчинних сполук, що утруднює їхнє використання рослинами. Можливим вирішенням цієї проблеми є використання електрогідрравлічного удару (ЕГУ) для подрібнення

часточок ґрунту при цьому мінеральні речовини у складі важкорозчинних речовин перетворюватимуться у легкодоступні для рослин форми. Відкривачем цього процесу був Лев Олександрович Юткін, на честь якого і назвали цей ефект. Він виникає при пропусканні іскрового заряду через рідке середовище, що спричиняє локальне різке зростання тиску в місці проходження, що виконує подрібнюючу дію і при цьому проходять електрохімічні процеси, які переводять нерозчинні солі у розчинний стан. В основному ефект Юткіна використовувався в технічних розробках і практично немає робіт по використанню його в дослідках на рослинах, що стримує використання його в сільському господарстві. Але цей метод збагачення ґрунту мінеральними сполуками є дуже перспективним, оскільки ще самим Юткіним було показано, що при використанні ЕГУ при впливі на звичайний ґрунт суттєво збільшується його поживність для рослин, а при пропусканні іскри через воду, з одночасним продуванням через неї повітря, в ній зростає кількість розчинних форм азоту. Тому метою даної роботи було вивчення впливу ЕГУ на органічні речовини і ґрунт та ріст проростків кукурудзи за дії витяжок з них.

Дослідження проводились на водних витяжках ґрунту, торфу та гною великої рогатої худоби. Для цього наважки відповідних субстратів по 50 г розчиняли у 300 мл дистильованої води і піддавали їх дії ЕГУ протягом 1 хвилини при напрузі 5 кіловольт, друга партія субстратів настоювалась без обробки, за контроль приймали дистильовану воду. Після обробки всі варіанти настоювали протягом доби.

Насіння кукурудзи по 30 насінин розкладали в кювети і приливали витяжки. Проростання проходило в темному термостаті при температурі 22°C протягом 7 діб, після чого проводили виміри морфометричних показників проростків.

Отримані результати показали зростання показників довжини та маси коренів і пагонів проростків кукурудзи на витяжках з ґрунту, торфу і в меншій мірі гною ВРХ, які були піддані дії ЕГУ порівняно із контролем(дистилат) і з витяжками органічних субстратів, які не оброблялись ЕГУ. В подальшому будуть проведені дослідження складу органічних субстратів за обробки ЕГУ та метаболізму рослин.

Фещюх А., Библів Х., Гузар О., Буньо Л., Пацула О.

**АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА РОСЛИН *SALIX VIMINALIS* L. ЗА РОСТУ
НА ЗАСОЛЕНОМУ СУБСТРАТІ ХВОСТОСХОВИЩА М. СТЕБНИК**

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: anastasi4uk@ukr.net

Fetsiukh A., Bybliv Ch., Huzar O., Bunio L., Patsula O. ANTIOXIDANT SYSTEM OF *SALIX VIMINALIS* L. PLANTS DURING GROWTH ON SALINE SUBSTRATE OF THE STEBANYK REGION. In our research we investigated changes in the antioxidant system of *Salix viminalis* L. plants, caused by growth on polluted soils. Were established, that plants show vulnerability to the salinity. The content of proline and ascorbic acid in the shoots were higher, when compared to plants that grown on unpolluted soils. The activity of enzymes increased under stressed conditions. Investigated that peroxidase is most active in shoots and catalase - in plants roots.

Серед усіх енергетичних рослин у світі *Salix viminalis* L. використовується в якості основної енергетичної культури для виробництва твердого палива [Кунцьо, Гументик, 2013]. *S. viminalis* є стійкою до посухи та засолення, вона може рости на ґрунтах різного типу і землях, що є непродуктивними для традиційного рослинництва [Марченко, 2012].

Засолення є одними із головних абіотичних факторів, що лімітують продуктивність рослин у всьому світі [Куриленко, Палладіна, 2005]. Важливою генетичною особливістю

грунтового покриття Стебницького хвостосховища є засоленість ґрунтів, яка залежить від вмісту водорозчинних солей [Назаренко та ін., 2003]. Сольовий стрес призводить до утворення в рослинах активних форм кисню (АФК) [Шевякова и др., 2013; Falleh et al., 2012]. Для захисту від оксидативного стресу у рослин є антиоксидантні ферменти – пероксидаза, каталаза. Пролін як і аскорбінова кислота також може виступати антиоксидантом [Lv et al., 2011; Chen, Dickman, 2005]. Накопичення проліну захищає від інактивації білки, ДНК, ферменти [Невмержицькая, Тимофеева, 2012]. Він разом із аскорбіновою кислотою, пероксидазою та каталазою забезпечують ефективний механізм детоксикації АФК [Bowler et al., 1994].

Для оцінки впливу засолення на антиоксидантну систему рослин *S. viminalis* було закладено дослід в польових умовах Стебницького хвостосховища. Живці вирощували протягом 120 діб. Вміст проліну, аскорбінової кислоти, пероксидази та каталази у листках, коренях та стеблі рослин *S. viminalis* визначали спектрофотометрично на «СФ-2000» [Bates, Waldren, Theare, 1973; Мусієнко, Паршикова, Славний, 2001; Гавриленко, Ладышна, Хандобина, 1975; Королюк, Иванова, Майорова, 1988].

У результаті наших досліджень було виявлено найбільше зростання антиоксидантів та ферментів у пагоні рослин *S. viminalis*, які росли на засоленому субстраті хвостосховища м. Стебника. У 5 раз збільшився вміст аскорбінової кислоти у пагоні, вміст проліну збільшився на 75 %, активність каталази — на 48 %, пероксидази — на 8 % відповідно у порівнянні з контролем. У коренях рослин *S. viminalis* вміст ферментів-антиоксидантів не зростав так помітно, як у пагонах, лише активність каталази зросла на 63 % у порівнянні з контролем. У листках вміст пероксидази, каталази залишався на рівні контролю і спостерігалось незначне зростання аскорбінової кислоти та проліну.

Отже, антиоксидантна система рослин *S. viminalis*, які росли на засоленому субстраті хвостосховища м. Стебника, проявляла чутливість до дії сольового стресу. Спостерігали збільшення активності ферментів-антиоксидантів у рослин верби внаслідок сольового стресу.

Шегеда І., Починок В.

ВПЛИВ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ АЗОТОМ НА ФОТОСИНТЕЗ, ПРОДУКТИВНІСТЬ І ЯКІСТЬ ЗЕРНА ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ

Інститут фізіології рослин та генетики НАН України
вул. Васильківська, 31/17, м. Київ, 03022, Україна
e-mail: igor.shcheda@mail.ru

Shcheda I., Pochinok V. INFLUENCE OF NITROGEN SUPPLY ON NET ASSIMILATION RATE OF LEAVES AND GRAIN PRODUCTIVITY AND QUALITY OF WINTER WHEAT. High level of mineral nutrition and foliar urea treatment had positive impact on the functioning of the photosynthetic apparatus, and the productivity and quality of wheat. Thus in terms of productivity and quality varieties Kyivska ostysta and Malynivka better responded to the foliar application of nitrogen than Astarta. Plants that are grown on a low level had lower values of grain weight protein content and collection. Under these conditions, additional feeding with urea also produced a positive effect but not sufficient enough to compensate for the lack of nitrogen in the soil.

Продуктивність фотосинтетичного апарату визначає врожайність рослин [Моргун та ін., 2009]. Зв'язок елементів структури врожаю із вмістом білка в зерні багато в чому визначається координацією процесів фотосинтезу та реутилізації азоту з вегетативних органів протягом періоду наливу зерна [Трибої, 2006; Починок, 2009]. Спостерігається кореляція між вмістом азоту в листках і стеблі в період цвітіння та вмістом білка в зерні [Бордюжа, 2011]. Позакореневе підживлення азотом після цвітіння сприяє підвищенню його вмісту в

зерні й подовженню активності фотосинтетичного апарату внаслідок зменшення конкуренції за азотовмісні сполуки між ним і зернівками [Моргун та ін., 2009].

Метою роботи було дослідити вплив фону мінерального живлення та позакореневого підживлення карбамідом на газообмін листків та продуктивність і якість зерна різних сортів озимої пшениці.

У вегетаційному досліді із сортами Астарта, Київська остиста, Малинівка створювали різні умови мінерального живлення: 1) високий фон мінерального живлення ($N_{160}P_{160}K_{160}$ мг діючої речовини на кг ґрунту); 2) високий фон з позакореневим підживленням 3 %-м розчином карбаміду одразу після цвітіння; 3) низький фон мінерального живлення ($N_{32}P_{32}K_{32}$); 4) низький фон з позакореневим підживленням карбамідом.

Встановлено, що на низькому фоні мінерального живлення інтенсивність асиміляції CO_2 листками була майже вдвічі меншою, ніж на високому. Підживлення карбамідом сприяло підвищенню даного показника, при цьому спостерігалась сортоспецифічність. Так, в Астарти у фазу молочної стиглості сильніше підвищення було на низькому фоні мінерального живлення, а в Малинівки вплив підживлення був більший на високому фоні. У фазу молочно-воскової стиглості рослини на низькому фоні втратили хлорофіл. У рослин на високому фоні в цей період інтенсивність фотосинтезу зменшилась, однак позитивна дія підживлення збереглася. Найвища активність фотосинтетичного апарату в цей період була в сорту Астарта. Поліпшення забезпечення рослин азотом сприятливо впливало на такі показники, як маса зерна з рослини, вміст і збір білка. Найвищий вміст білка був у сорту Київська остиста на високому фоні мінерального живлення за обробки карбамідом. Найбільша маса зерна і збір білка були в сорту Астарта на високому фоні. Виявлено, що позакореневе підживлення карбамідом підвищує загальний збір білка в Київської остистої й Малинівки.

Таким чином, позитивний вплив на функціонування фотосинтетичного апарату, а також продуктивність і якість зерна пшениці мали високий фон мінерального живлення та позакоренева обробка карбамідом. При цьому за показниками продуктивності та якості сорти Київська остиста і Малинівка краще реагували на позакореневе підживлення азотом, ніж Астарта. Рослини, які вирощувалися на низькому фоні, мали менші значення маси зерна, вмісту і збору білка. За цих умов додаткове підживлення карбамідом також чинило позитивний вплив, але недостатній, щоби компенсувати нестачу азоту в ґрунті.

Шестако М., Кавулич Я., Кобылецька М.

**ВМІСТ СУХОЇ РЕЧОВИНИ ТА КСАНТОНІВ У РОСЛИНАХ ПШЕНИЦІ
ЗА ДІЇ САЛІЦИЛАТУ ТА КАДМІЮ ХЛОРИДУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: shestakomarta@gmail.com*

Shestako M., Kavulych Y., Kobyletska M. DRY MATTER AND XANTHONS CONTENT IN THE WHEAT PLANTS UNDER THE ACTION OF SALICYLATE AND CADMIUM CHLORIDE. Investigated the effect of cadmium and salicylic acid on xanthone content in wheat (*Triticum aestivum* L.) plants. Eestablished that the action of cadmium ions increased the content of xanthone and reduced formation of dry mass. For reducing the impact of stress factors it is expedient to use salicylic acid, which normalize the amount of xanthone in wheat plants. With this stress regulator, phytohormons can significantly reduce the toxic effects of cadmium ions.

Екзогенне забруднення ґрунтів токсикантами, а саме важкими металами (ВМ), призводить до зміни фізико-хімічних і агрохімічних властивостей ґрунту, порушення нормального росту й розвитку рослин. Кадмій, один із небезпечних забрудників довкілля, високотоксичний для рослин і тварин. Негативний вплив виявляється у пригніченні рос-

ту рослин, хлорозі листків, почорнінні апексів коренів [Benavides, 2005]. Останнім часом значна увага приділяється вивченню гормоноподібних речовин, які підвищують стійкість рослин до несприятливих умов. До таких сполук належить і саліцилова кислота (СК), що відіграє основну роль у стійкості рослин як до біотичних, так і до абіотичних факторів навколишнього середовища [Voiko, 2012]. Для того, щоб використовувати саліцилову кислоту в протекторних цілях, необхідно ретельно дослідити механізми її впливу на рослини за дії тих чи інших факторів середовища.

Тому, метою нашої роботи було дослідити вплив екзогенної саліцилової кислоти на зміну вмісту ксантонів та вмісту сухої речовини у рослинах пшениці в умовах кадмієвого стресу [Кривут, 1976, Кукушкіна, 2011]. Об'єктом нашого дослідження були рослини пшениці вирощені методом піщаної культури. Попередньо насіння замочували у дистильованій воді (контроль) та 0,05 мМ розчині СК протягом п'яти годин. Насіння пророщували за загальноприйнятими методиками. За контроль слугували рослини, вирощені з додаванням дистильованої води без кадмію та СК, дослідними були рослини, вирощені на середовищі з кадмієм (кадмій вносили в субстрат у вигляді CdCl_2 у розрахунку 25 мг/кг), CdCl_2 +СК. Дослідження проводили на 14-у та 21-у добу росту рослин.

Аналізуючи вміст ксантонів у пагонах рослин пшениці встановили, що вміст цих сполук зростає із віком рослин. Таку закономірність спостерігали у контрольному варіанті. За дії саліцилової кислоти вміст ксантонів на 21-добу росту був дещо нижчим, ніж на 14-добу. Дія кадмію спричинювала значне зменшення цих сполук із віком рослин, що, на нашу думку, може бути спричиненим зміною у вмісті інших класів фенольних сполук. За сумісного впливу саліцилової кислоти і кадмій хлориду вміст ксантонів був нижчим у порівнянні з впливом лише кадмію і наближався до рівня контролю. Отже, саліцилова кислота діяла протекторно, наближаючи вміст досліджуваних фенольних сполук до контролю. Вміст сухої речовини у рослинах пшениці за дії СК змінювався не суттєво, проте за дії кадмію хлориду виявили значне зменшення вмісту сухої речовини в пагонах рослин на 21-добу росту. Як відомо, цей показник дає можливість підтвердити деструктивні зміни у білковому синтезі (переключення метаболізму на синтез стрес-білків), порушення водобмінних процесів тощо. Щодо сумісного впливу СК і кадмію хлориду, спостерігали незначні позитивні зміни, індуковані саліцилатом. Отже, по двох показниках представлених вище, можна говорити про стреспротекторну роль саліцилату за дії негативних факторів зовнішнього середовища.

АВТОРСЬКИЙ ПОКАЖЧИК / INDEX OF AUTHORS**A**

Andriychuk E., 209

Ashpin M., 60

B

Babenko L., 213, 222

Belayeva Y., 207

Beregova T., 72

Berezka K., 241

Blokhina O., 80

Bobak Y., 61

Bogacz R., 75, 79

Bondar A., 245

Borbuliak M., 241

Borys O., 121

Boychuk L., 163

Burda E., 149

Buyun L., 205, 207, 219, 220

C

Chayka Ya., 244

Chervinska T., 70

Chornyi S., 61

D

Demchenko D., 208

Dmytruk K., 241

Dmytryk V., 67

Dovbynychuk T., 70

Dovgiy R., 209

Dranitsina A., 72

Dranitsina, A., 60

Dvorshchenko K., 60, 73, 80

Dvorshenko K., 72

Dykyy I., 168

Dzydzan O., 62

E

Epple M., 244

F

Falfushynska H., 71

Fayura L., 242

Fedorenko V., 126

Finiuk N., 244

G

Gnatyshyna L., 64

Goshovska Yu., 273

Gralak P., 73

Grebinyk D., 72

Gromyko O., 126

Grudniewska J., 74, 75, 77, 79

Gryniv Kh., 242

Guralczyk A., 205

Gyrenko O., 205

H

Haiboniuk I., 122

Herheliuk T., 243

Hetmanski T., 78

Holovan V., 209

Honcharenko V., 219

Horyn O., 71

Hryniv O., 241

I

Ivanets O., 164

Ivanova T., 210

J

Jerzak L., 149

K

Kharchuk A., 65

Kharina A., 212

Khilko V., 60

Kitsera M., 244

Klymyshyn N., 241, 246

Kocherova I., 272

Kolibo D., 217

Kolodii O., 211

Komarnytskyy I., 168

Korotkyi O., 73, 80

Kosenko I., 212, 222

Koshla O., 121, 123

Kovalska L., 205

Koval Y., 164

Kovelska Y., 73

Kozak Yu., 244

Kravchenko N., 215

Kravets V., 123

Kryuk D., 147

Kubashok Z., 65

Kurhaluk N., 67, 78

Kurlishchuk Y., 61

Kurytsia K., 63

L

Lazarenko L., 213, 222

Leanovich S., 124

Lehka L., 244

Loseva D., 213, 222

Luchkova A., 273

M

Makukh H., 122

Maletska I., 64

Marędziak M., 272

Martyniuk V., 64

Marycz K., 272

Maryniuk M., 220

Megalinska G., 210

Melnikava A., 124

Melnykova O., 213, 222

Mitina N., 244

Myhalska V., 65

Mys L., 273

N

Najbar B., 149, 168

Nedzvetsky V., 70

Negray D., 214

Nikolsky I., 209

Nisio E., 274

Nowacka-Chiari E., 149

Nowacki A., 149

O

Ohienko S., 245

Oronova A., 66

Osadowski Z., 205, 207, 219, 220

Osiyeva A.-A., 165

Ostapchenko L., 243

Ostash B., 121, 123, 125, 126

Ostash I., 125

Ostrovsky A., 166

P

Palczynska-Gugula K., 67

Panchuk R., 244

Panko A., 147

Parzych A., 148

Pasichnyk A., 67

Pazontka-Lipinski P., 68, 80

Pekala A., 77

Perepelytsina O., 243

Peretiazhko I., 66

Pokhylko Yu., 215

Pozhylov I., 216

Pozniak D., 80

Prokopiv A., 219

Protchenko Yu., 80

Protokowicz K., 275

Pryshchepa I., 70

Prysiazniuk A., 70

Ptaszek K., 275, 276

Pyzh M., 125

R

Rayetska Ya., 67

Rektor R., 149

Reshetylo O., 165

Romanenko M., 63

Romanyshyn O., 246

S

Sabadashka M., 62

Sagach V., 273

Sagan I., 213, 222

Sehin Y., 125

Semkiv M., 218, 241

Shapoval I., 63

Shevchenko T., 222

Sholokh A., 70

Shuvayeva G., 61

Shybanov S., 216

Sidorchuk N., 80

Sirocka I., 275

Siromolot A., 217

Skorokhyd N., 244

Snegirenko O., 246

Sokolova I., 222

Sokolova V., 244

Soltys I., 71

Spivak M., 213, 222

Stakhurska O., 216

Stasyk O. G., 246

Stasyk O. V., 246

Stoika R., 244

Stoliar O., 65

Strutynska N., 273

Sybirna N., 62, 242, 244

Sydorenko M., 243

Szmyjda S., 75

T

Taburets O., 72

Tarabara U., 20

Ternavska O., 218

Tikhova Y., 73

Tistechok S., 126

Titova L., 210

Tkachenko H., 67, 68, 73, 74, 75, 77, 78, 79, 80,
205, 207, 219, 220

Trusova V., 20

Tsyurulnyk A., 211

Turak T., 167

Tymchyhyn O., 212

Tymchyshyn O., 222

Tymoshenko A., 208

Tyrkus M., 122

V

Vasylenko A., 126

Vereschaka V., 72

Volkava D., 124

Voronkevych M., 213, 222

Voronkova O., 213

Vovk A., 80

Voychuk S., 66

Vus K., 20

W

Walińska K., 149, 168

Wieczorek M., 149, 168

Witaszek M., 68, 80

Wydrzysek U., 79

Wyroslak M., 276

Y

Yakymchuk O., 243

Yavorska H., 211, 218

Yuskiv Kh., 123

Z

Zahorodnyi I., 168

Zaichenko A., 244

Zamoroka A., 163, 167

Zhukava H., 147

Zygielewicz E., 247

А

Абрамова Л. П., 51
Абрамчук О., 262
Авдєєва Л., 171
Акуленко І., 181, 256
Ал-Бахадлі Алі Мохаммед М, 22
Алсардіа Мохаммад Моршед Айед, 22
Аль Бегіаі Мохаммад Алі Юсеф, 23
Андрєєва Ю., 224
Андрейчук Р., 82
Андрійко М., 83
Антоняк Г., 284
Арешков П., 231

Б

Бабський А., 19, 250
Бамбура О., 183
Банас О., 240
Банах С., 170
Бараннік Т., 30
Баранова С., 128
Баранов В., 146, 287, 292
Барановський М., 128
Басараб В., 171
Батрашкіна Т., 277
Безкоровайний А., 5
Безродна А. І., 51
Белава В., 289
Бено Ю., 6
Бергер В., 233
Бережанська Б., 131
Бережанська І., 172
Бешлей С., 133
Библів Х., 293
Бичкова С., 250, 254
Біла І., 224
Білан В., 277
Білий О., 185
Білобров В., 7, 9
Білянська Р., 173
Бішко О., 16
Бобко Н., 249
Богославець Х., 191, 199
Боднар І., 99
Боднар Л., 99
Боднарчук Н., 7
Бойко Т., 188
Бородіна Н., 24
Борсукевич Б., 196, 197
Братусь Н., 100
Бригілевич О., 178
Бровко І., 177
Бродяк І., 224
Бублик Я., 129
Булботка Н., 237
Буньо Л., 137, 293
Бура М., 14
Бур'ян З. В., 150
Бутенко Н., 252
Бухвал М. О., 84
Бучек П., 253

В

Василакі А., 25
Василишин Р., 203
Василів О., 176, 185
Васильченко О., 190
Васильок Д., 26
Васильок О., 136
Векліч Т., 43
Весельський С., 264
Вивірка М., 257
Високосова А., 151
Вінніков А., 171
Вірич П., 8
Вітрук Ю., 117
Власюк І., 101
Вовк В., 174
Возна М., 175
Войтків О., 278
Войцехівська О., 134
Волинець Г., 113
Волошанська С., 278
Волощук Н., 190
Волощук О., 38
Воробієвська Ж., 282
Воронкова О., 171
Воронкова Ю., 37
Воронкова Ю. С., 33
Вулицька Д., 7, 9

Г

Гайда Г., 170, 226
Галан М., 11
Галка О., 290
Галкін О., 27
Гарасим Н., 5, 16
Гарашук А., 239
Гарманчук Л., 60
Гачкова Г., 39, 49, 56, 58, 230, 237
Герчик Д., 28
Гладун Д., 25
Гнатуш С., 170, 172, 173, 174, 176, 178, 179, 185,
191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198,
199, 204
Гнатчук І., 248
Гнатюк Т. Ю., 180
Гнилох Н., 225
Голембіовська С., 183
Головацька І., 29
Голота Ю., 269
Голуб Н., 114
Гончаревський С.О., 10
Гора Н., 102
Горбаль Л., 101, 105
Горбач О., 235
Горбулінська О., 36, 39, 56
Горбулінська С., 100, 107
Горінь Т., 175
Горішний М., 173, 175
Горобець М., 47
Горошок Х., 176
Гренюх В., 19

Гречишкіна С., 279
Григоренко В., 240
Гринчук О., 99
Грицина І., 103
Гриців С., 103
Грицюк І., 249
Громяк Н., 104
Грудіна Н., 290
Грузінський С., 177
Грязнова Т., 229
Гудима О., 118
Гузар О., 293
Гуменюк І., 177
Гурін В., 18
Гутич І., 186
Гут І., 232

Д

Даниленко Є., 281
Дахнова Д., 30
Дацюк Л., 36
Демидов С., 117
Демків О., 170
Десенко С., 47
Дехтяренко Н., 116
Джаган В. В., 92
Джула М., 11
Дика Г., 250
Дика М., 6, 15
Дмитрук К., 115, 224
Довбань О., 31
Довбинчук Т., 269
Доровських М., 281
Дорощук Є., 85
Драч Ю., 130, 135
Дубенська Л., 194
Дубовик О., 152
Дубровська А., 240
Дудок К., 32, 42, 53
Дяків С., 178, 179

Є

Ємець А., 106
Єрмоленко Т. В., 180
Єфіменко Н., 32
Єфремова У., 44

Ж

Жованник В., 33
Жукровська К.-О., 105

З

Забеліна І. А., 12
Засць В., 18
Заїченко О., 14, 230
Запісоцька І., 146
Захарко С., 198
Зборівська О., 282
Звір Г., 172, 194, 195, 204
Здвіжков Ю., 14
Зелена П., 181
Зинь А., 5
Зінковський А., 153

Златогурська М., 200
Злобенко І., 251
Зуєва О., 235

І

Іванніков Р. В., 88
Іванська С., 226
Івасишин В., 252
Ігнатченко П., 253
Ізак З., 131
Іккерт О., 271
Ісаченко О., 85
Іскра Р., 54
Іщук Т., 45

К

Кавулич Я., 286, 295
Калиновська К., 132
Канюка О., 29
Кармаш О., 227
Карпінєць Л., 133
Качур С., 86
Кваско А., 106
Кириченко С., 50
Кирієнко А., 35
Кицмен Х., 228
Клепач Г., 278, 284
Климець Г., 54
Климишин Н., 228, 233, 236, 239
Клімович Н., 87
Ключівська О., 103
Кней В., 36
Кобилецька М., 286, 295
Кобилінська Л., 103
Коваленко А. О., 12
Коваленко М., 283
Коваленко С., 188
Ковальська С., 254
Коваль Т., 45
Ковальчик М., 107
Ковальчук А., 151
Ковальчук З., 108, 110
Ковальчук Н., 151
Коваль Ю., 283
Козаков Д., 229
Козерецька І., 102, 117
Козловський О., 290
Колб Ю., 103
Колещук О., 270
Колісник Я., 203
Колотій О., 60
Комаров І., 60
Комплікевич С., 198
Конечна Р., 103
Кононенко Д., 290
Кононенко О., 117
Копильчук Г., 38
Копиця М., 258
Копій О., 114
Корбуш М., 181, 256
Кордупель Н., 182

- Коржик О., 255
Корнелюк О., 18
Корнієнко В., 181, 256
Король Т., 257
Корчевська В., 134
Костерева М., 193
Костів М., 257
Костіна І., 258
Котик Б., 259
Котик О., 13
Котлярова А., 13
Коцур В., 51
Коцюк А., 183
Кошла О., 116
Кравчишин Н., 230
Кразова Н. С., 12
Красненкова І. Л., 88
Кривдюк Ю., 260
Криницька Г., 37
Кропивко С., 41, 229
Кужик Ю., 109
Кузьо Г., 152
Куліш О., 108, 110
Куриленко О. В., 154
Кучеренко І., 51
Кучук М., 108
- Л**
Лавриненко К., 231
Лесик Р., 103
Лесько І., 184
Леснік В., 162
Лизак О., 115, 224
Лилик М., 252
Линчак О., 251
Литвинчук Д., 141
Лишак М., 82
Лопухова М., 285
Лупак О., 284
Луцик М., 112
Луцька М., 154
Лященко Т., 264
- М**
Мазур В., 14
Мазур Г., 261
Майстренко О., 102
Макогоненко С., 287
Максимів Н., 184
Максимів С., 135
Маланчук О., 232
Малик Б., 286
Мамчур З., 130, 135
Мандзинець С., 14, 19
Мандзюк О., 111
Манько Б. В., 267
Манько Б. О., 259, 261, 263, 267
Манько В. В., 248, 259, 261, 263, 268, 271
Манько Н., 112
Мардаревич Р., 176
Мартісова М., 232
Марунишин С., 185
Марущак О., 136
Марценюк О., 235
Марців М., 155
Марченко С. М., 13
Масловська О., 174
Матвієнко Т., 7, 9
Матвієнко Ю., 290
Матійців Н., 118
Маяковська А., 113
Мегалінська Г., 85, 281
Меженська Л., 120
Мекіч М., 137
Мерлавський В., 267
Мирюта Г., 288, 291
Митківська Т. І., 92
Михальська С., 277
Мінченко Д., 27
Мінченко О., 27
Мірюта Н., 288, 291
Мішина Ю., 38
Мішкевич Т., 39
Міщенко Л., 39, 49, 56
Міщук Я., 117
Молочій Н., 233
Монастирська С., 131
Моренко А., 255, 262
Мороз О., 172, 179, 191, 192, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 204
Мотигіна В. С., 138
Мощенко Я. Г., 89
Мунько О., 40
Муравинець О., 156
Муравинець О. А., 265
Муравйова Д., 31
Мурдасов Є., 33
Мутенко Г., 109
Мушкета П., 19
- Н**
Нагалєвська М., 29, 36, 39, 49, 56, 57
Наконечна О. А., 51
Некрасова О. Д., 157
Немеш Я., 41
Никитюк К., 42
Нипорко О., 17
Нідялкова Н., 52
Нікітченко І., 24
Нікітченко Ю., 24
Нікольський С., 186
Ніконішина Ю., 43
Новікова Д., 51
- О**
Овсяннікава Т. М., 12
Одінцова А., 87, 95
Олійник М., 288
Олійник С., 114
Ольхович О., 279
Онищенко К., 240
Онуфрович О., 44
Опарін О., 258
Опейда Є., 187

Оринчак Т., 172
Орловська Л., 188
Орловський А., 189
Оскірко О., 136
Оскірко О. С., 157
Остапів Р., 268
Остапюк Н., 190
Осташ Б., 104, 109
Остринська О., 47
Отражий П., 50

П

Павлова Н., 13
Павлович О., 262
Пазюк О., 263
Панасюк Г., 232
Панчук М., 159
Панюта О., 289
Парій М., 35, 110
Парій М. Ф., 108
Парнікоза І., 288, 291
Паузер О., 285
Паустовська А., 256
Пацула О., 277, 293
Пенькось І., 196
Перегінєць Г. А., 160
Перета Л., 240
Перетятко Т., 182, 184
Петеньова Л., 258
Петріна Р., 103
Петровська Я., 115
Пилипів Ю., 139
Письменна Ю., 289
Пільц О., 191
Поважнюк Г., 45
Погребна А., 264
Подобайло Р., 290
Полатайко Т., 90
Поліщук А., 13
Поліщук О. О., 265
Поліщук П., 46
Попович М., 15
Пороннік О., 288, 291
Поручинський А., 262
Посреднікова К., 161
Починок В., 294
Припін О., 179
Прокоп'єва І., 188
Прокопів А. І., 84, 97
Протопопов М., 47
Проценко О., 102
Процишин А., 140
Пстрий С., 16
Пундор О. А., 234
Пушак У., 91

Р

Расцька Я., 40, 45, 59
Ракша Н., 25, 26, 46
Ратушна О., 27
Регада Л. В., 92
Решетило О., 159

Рижа А., 266
Римар С., 253
Рожков Р., 35
Рокицький І., 116
Романенко М. Г., 265
Романишин О., 236
Романків Л., 162
Рубіновська Б., 192
Рубленко К., 151
Рудик М., 187
Рудницька М., 48, 281

С

Сабадашка М., 28, 29, 57
Сабадашка М. В., 234
Савицька О., 132, 139, 142, 144
Савосько С., 266
Савчук О., 59
Саган О., 92
Самойлов А., 201
Санагурський Д., 5, 7, 16
Светлова Н., 283
Свищ І., 194
Святецька В., 187
Сегін Т., 193
Семеніна О., 178
Семенко А., 33
Семків М., 53
Сенів М., 93
Сеньків Ю., 233
Сербин Н., 232
Серга С., 102, 117
Сергійчук Т., 181, 256, 269
Серивко Б., 103
Сех Н., 194
Сельська В., 94
Серватовська Є., 151
Сибіль М., 11
Сибірна Н., 28, 29, 32, 36, 39, 49, 56, 57, 58, 224
Сибірна Н. О., 234
Сибірний А., 115
Симоненко Ю., 35, 108, 110
Сич Г., 195
Сідорова О., 259, 263, 267
Сіренко А. Г., 154
Сірко С., 47
Скворцова М., 85
Скиба Х., 268
Скибіцька М., 82, 91, 92
Сківка Л., 187
Скребовська С., 94
Скрипець Х., 95
Скрипкіна І., 240
Сливка Ю., 235
Смакула Ю., 11
Сметана Є., 291
Смирнова В., 108
Снегіренко О., 236
Сойма М. В., 96
Сокирко О., 141
Соліляк З., 49

Сорочинська Н., 196
Соханьчак Р., 133
Спіріна В., 50
Стабровський С., 51
Стасик О., 225
Стасик О. В., 228, 236, 238
Стасик О. Г., 228, 236, 238
Стасюк А., 142
Стасюк Н., 226
Стаховський Є., 117
Стецик Х., 257
Стецька В., 269
Стогній Є., 52
Стойка Р., 103, 230, 233
Стриковський Н., 197
Стрільбицька Х., 53
Сушко О., 54

Т

Тарабас О., 198
Таран Н., 283, 289
Теглівець С., 292
Терек О., 137, 146
Тершак С., 56
Тесарівська У., 270
Тимченко І. В., 138
Типусяк І., 99
Титаренко Н., 258
Тищенко О., 186
Товкач Ф., 200
Токаренко К., 17
Толстанова А., 181
Толстанова Г., 256, 269
Трохимець В., 153
Трохимець В. М., 150
Троценко В., 282
Трояновська Л., 116
Трухим Н., 199

У

Утевський Ю., 143
Ушакова Г., 31
Ушакова Г. О., 33

Ф

Фафула Р., 44
Федоренко В., 101, 104, 105, 112
Федорович Д., 42
Федорчук О., 187
Ференсович Я., 185
Фецюх А., 293
Філімонова Н., 260
Філоненко В., 232
Фінюк Н., 230, 250
Фітьо А., 57

Х

Харківська Є., 117
Хархота М., 171
Хітровська Л., 58
Хлібійчук Ю., 200
Храбко М., 270
Худякова О., 60

Ц

Цапенко П., 264
Цап М., 118, 270
Цвілинюк О., 140
Циган А., 237
Цирульник А., 239
Цуварев О., 18

Ч

Чайка Я., 226, 227
Чепець Т., 144
Черепашук І., 201
Чернишенко В., 52
Черномаз М., 194
Чернюк В., 249
Чернявська М., 238
Чорненька Н., 40, 59
Чуба М., 130
Чупракова В., 151

Ш

Шалай Я., 19
Шварц Л., 262
Шевцова К., 271
Шевченко Л., 202
Шевчук Н., 203
Шегеда І., 294
Шегинська М., 204
Шелест Д., 60
Шельвінський В., 155
Шелюк О., 8
Шеремета В., 292
Шершова Н., 145
Шестако М., 295
Шичкін В., 235
Шкрабак О., 43
Шкулка О., 192
Шматко Г., 188
Шопська І. Ю., 97
Шпаковська І.-М., 239
Шпак Я., 146
Шувалова Н., 253
Шумська З., 193

Щ

Щербакова О., 111
Щербик К., 240

Ю

Юрочко М., 204
Юшук О., 101, 105

Я

Яблонська К., 119
Яворська Г., 191, 192, 199
Якуба І., 285
Якубовська А., 271
Яремчук М., 15
Ярмолук С., 47
Яцюк Є., 151
Ящук А., 120

Міністерство освіти і науки України
Львівський національний університет імені Івана Франка
Міністерство науки і вищої освіти Польщі
Поморська академія в Слупську

Молодь і поступ біології

ЗБІРНИК ТЕЗ
XIII Міжнародної наукової конференції
студентів і аспірантів

25 – 27 квітня 2017 року

Львів – 2017

Ministry of Education and Science of Ukraine
Ivan Franko National University of Lviv
Ministry of Science and Higher Education Republic of Poland
Pomeranian University in Słupsk

Youth and Progress of Biology

BOOK OF ABSTRACTS
of XIII International Scientific Conference
for Students and PhD Students

25 – 27 April 2017

Lviv – 2017