

7. *Самострельський А.Ю.* Метод прямого счёта лептоспир в определенном объёме / А.Ю. Самострельский // Лабораторное дело.–1966.–№2.–С. 105–108.
8. *Чорна Г.А.* Рослини наших водойм. Атлас-довідник / Г.А. Чорна – Київ. Фітосоціоцентр, 2001.– 134 с.

А.В.Гулай, В.В.Гулай, А.Ф. Аркушина

Кировоградский государственный педагогический университет им. Владимира Винниченко, Украина

ОСОБЕННОСТИ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МЕЖДУ ПРЕДСТАВИТЕЛЯМИ СЕМЕЙСТВА ХВОЩИ И ПАТОГЕННЫМИ ЛЕПТОСПИРАМИ В УСЛОВИЯХ ПЕРЕУВЛАЖНЕННЫХ ЗЕМЕЛЬ

Прежизненные выделения (дифузаты корневищ и смывы с живых стеблей), а также продукты разложения мертвых стеблей хвоща болотного и хвоща речного угнетают в сильной и умеренной степени *in vitro* культуры патогенных лептоспир серологического варианта *Icterohaemorrhagiae*.

Ключевые слова: хвощ речной, хвощ болотный, патогенные лептоспиры, прижизненные выделения, продукты разложения стеблей

A.V.Gulay, V.V.Gulay, A.F. Arkushyna

Vladimir Vinnichenko Kirovograd State Pedagogical University, Ukraine

PECULIARITY OF ECOLOGICAL INTERACTIONS AMONG REPRESENTATIVES OF FAMILY *EQUISETACEAE* AND PATHOGENIC LEPTOSPIRES IN THE CONDITIONS OF WETLANDS TERRITORIES.

Lifetime secretes (diffusions substances of rhizomes and washing alive stalks) and also substances of decomposed dead stalks of *Equisetum palustre* L. and *Equisetum fluviatile* L. are reduced *in vitro* cultures of pathogenic leptospire (serological variant *Icterohaemorrhagiae*) in the high and middle degrees.

Key words: *Equisetum fluviatile*, *Equisetum palustre*, pathogenic leptospire, lifetime secretes, substances of decomposed dead stalks

Рекомендує до друку

Надійшла 23.09.2010

В.В. Грубінко

УДК [576.314:576.344+581.522.5:582.263]

К. В. КОСТЮК, В. В. ГРУБІНКО

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса 2, Тернопіль, 46027

СТРУКТУРНА РЕАКЦІЯ КЛІТИННИХ МЕМБРАН ВОДНИХ РОСЛИН НА ДІЮ ТОКСИКАНТІВ

У статті наведено дані про вплив металів і нафтопродуктів водного середовища на мембраногенез в клітинах водних рослин – хлорели, елодеї та ряски. Вперше описано механізм адаптації водних рослин до хімічних речовин за рахунок індукції утворення в їх клітинах вторинних концентричних мембран.

Ключові слова: водні рослини, важкі метали, дизельне паливо, вторинні концентричні мембрани

Життєдіяльність клітин, особливо у водних організмів, які постійно контактують із середовищем існування, переважно визначається складом, структурою і функціональним

станом їх мембран. У стійкості рослин до дії чинників зовнішнього середовища, крім специфічних (щільність, в'язкість, проникність і ін), важливу роль відіграють і неспецифічні реакції мембран, які часто пов'язані з зміною їх структури і складу [8, 9].

Проте, донині тонкі механізми мембранних перебудов, особливо у водних рослин, при зміні хімічного складу середовища їх проживання детально не вивчені.

Метою дослідження є встановлення структурної перебудови мембран за дії токсикантів (важкі метали, дизельне паливо) у різних водних рослин, що відрізняються таксономічно та стійкістю до стрес-факторів.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на хлорелі *Chlorella vulgaris* Beijer., елодеї *Elodea canadensis* Michx і рясці *Lemna minor* L. Хлорелу вирощували в умовах накопичувальної культури в люменостаті при освітленні лампами денного світла (2500 лк) і температурі 20 ± 1 °C на живильному середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горхема (№ 11) [5]. Елодею і ряску вирощували в акваріумах з відстояною водопровідною водою при в тих самих умовах. В експериментах до культури рослин в кожному випадку окремо додавали водні розчини солей металів $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ і $Pb(NO_3)_2$ з розрахунку на іон: Zn^{2+} – 1,0 мг/дм³, 2,0 и 5,0 мг/дм³; Pb^{2+} – 0,1 мг/дм³, 0,2 и 0,5 мг/дм³, що відповідає 1, 2 і 5 ГДК, а також дизельне паливо (ДП) в кількості 0,01 мг/дм³; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3 мг/дм³, що становить 1, 5, 10, 20, 30 ГДК відповідно згідно рибогосподарських показників шкідливості [3]. Період інкубації водоростей з токсикантами становив 1, 3, 7 і 14 діб. Контролем були рослини, які росли в середовищі без токсикантів.

Клітинні мембрани виділяли за методикою Фіндлея і Еванза [7] з гомогенатів біомаси водних рослин (відділяли центрифугуванням при 1500 g, 20 хв), отриманих в механічному гомогенізаторі при 7000 об./хв. в 5 мМ трис-НСІ буфері (рН 7,6), що містив 0,5 М сахарози, 0,005 М ЕДТА, 0,01 М КСІ та 0,001 М $MgCl_2$ (сиря маса:об'єм буфера – 1:5), центрифугуванням при 5000 об/хв протягом 15 хв. Осад, що містив клітинні мембрани, ресуспензували у верхній фазі розчину, отриманого змішуванням двофазної системи розчинів 0,25 М сахарози і 30%-ного поліетиленгліколю в 0,2 М розчині фосфату натрію, попередньо витриманого 24 год. при 4°C. Суспензію розподіляли порівну в три полікарбонатні пробірки об'ємом 50 мл, у кожену додавали 10 мл нижньої фази суміші розчинів, змішували і центрифугували при 2000 g 15 хв. у бакет-роторі. Мембранний матеріал відбирали в місці розділення фаз за допомогою шприца. Всі процедури здійснені при 4°C.

Мікроскопічне дослідження мембран (мікроскоп МБІ-15) здійснювали після їх фарбування фарбником “хлор – цинк – йод” (водний розчин $ZnCl_2$ і КJ) [11].

Результати дослідження та їх обговорення

Одним з фізіолого-біохімічних феноменів, який спостерігався нами раніше у клітинних мембранах водних рослин [4], є їх здатність після первинного ушкодження токсикантами і значної втрати функцій адаптуватися до токсичних чинників середовища проживання і з часом відновлювати функціональну активність, включно активність мембранних ферментів, насамперед АТФ-аз. Показано також, що при попаданні клітин у змінене середовище пошкоджена мембрана не тільки відновлює свої функції після припинення дії токсикантів, але і спостерігається унікальне явище, яке виявлено у декількох випадках, швидше за все, як результат захисно-компенсаторної реакції клітин до несприятливих чинників, але загальноприйнятої назви ще не має – “індуковане утворення вторинних концентричних мембран”. Це явище було виявлено на ранній стадії аскоспорогенезу у *Arthroderma vanbreuseghemi*, а пізніше у *Arthroderma simii* [13, 15], у яких аски містили перетинчасті структури, які становили мембранну систему з двох вставлених мембранних одиниць аморфного характеру подібно концентричним мембранним колам. Пізніше диференціювання гомогенної подвійної мембранної системи було виявлено протягом дозрівання аск [16]. Кільцевий мембранний комплекс виявлено і у процесі сперматогенезу *Fenneropenaeus chinensis* [18].

У рослин мультіламельярні перетинчасті профілі, асоційовані з плазматичною мембраною, бульбашками, ендоплазматичною сіткою і десмосомами, виявлені в сухому пилку груші *Pyrus communis* L. [17].

У роботі [12] показано, що концентрична система мембран присутня у ізолюваних нервових клітинах гвінейської свині. Пізніше тими ж авторами [14] при моделюванні внутрішньоклітинних мембран *in vitro* під впливом перманганату калію отримані електронні мікрофотографії мієлінових фосфоліпідів двох індивідуальних мембран різної щільності, що становлять концентричний масив, в якому попарно зв'язуються від 200 до 1000 мембран. В роботі зроблено висновок про можливість регуляції формування концентричної системи штучних фосфоліпідних мембран у аралдіті під впливом перманганату, що підтвердила модулююча здатність до утворення концентричних мембран не тільки біологічних стрес-станів, але і хімічних речовин.

Щодо водних рослин, то при вирощуванні клітин хлорели і мікрокока в середовищі, що містить від 6% до 9% важкої води (Н-і D-середовища), клітини хлорели мали товстішу клітинну стінку, ніж контрольні клітини, а на мікрофотографіях дейтерованих клітин виявлені ущільнені та електронно-прозорі ділянки щільно упакованих мембран, на зразок мезосом [6]. Ділянки при цьому відрізнялися від контрольних показниками вмісту жирних кислот із D-ліпідів. Зроблено висновок про те, що клітинна мембрана є однією з перших органел клітини, яка відчуває вплив важкої води, і тим самим компенсує реалогічні параметри мембрани (в'язкість, текучість, структурованість) зміною кількісного складу ліпідів.

Отже, утворення вторинної мембрани в клітинах пов'язане або з структурно-функціональними перебудовами при активній диференціації клітин, або з хімічним впливом. Разом з тим справжня причина і механізм розвитку цього процесу не встановлені, але в більшості випадків передбачається, що при утворенні вторинної мембрани відбувається молекулярна перебудова, яка призводить до кількісних та якісних змін її складу, супроводжується змінами її ферментативної активності, проникності та іонних потоків, внаслідок чого спостерігаються істотні зміни у метаболізмі та функціональній здатності клітини. Слід зауважити, що цю реакцію мембран спостерігали тільки в екстремальних станах клітин і проявлялася вона фенотипічно в різних модифікаціях. У зв'язку з останнім виявлене явище в кожному випадку авторами названо по-різному: “закутування мембранної системи” [18], “система подвійної мембрани” [16], “багаторазові мембрани концентричної мембранної системи” [13, 15], “присутність гомогенних внутрішніх і зовнішніх треків подвійної мембранної системи” [10]. Оскільки всі назви відображають явище з аналогічними змінами, дотримуємося визначення “подвійна концентрична мембрана”.

У нашому дослідженні за допомогою мікроскопії у клітинах, які росли у середовищі з важкими металами і дизельним паливом, порівняно з клітинами контрольних рослин, виявлені істотні морфологічні відмінності (рис. 1-4), які в основному стосувалися зміни товщини мембран і величини клітин.

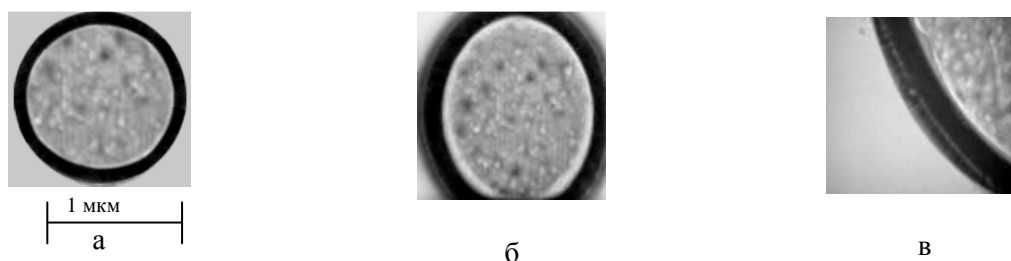


Рис. 1 Мікрофотографії контрольних клітин хлорели (а), елодеї (б) і ряски (в) (вказаний масштаб витриманий і на рис. 2-4)

В середовищі з додаванням іонів цинку вже протягом першої доби в клітинах хлорели збільшується зернистість цитоплазми. Після закінчення 3-ї доби в клітинах з'являється друге концентричне коло мембран, зернистість цитоплазми зростає, спостерігається підвищення вакуолізації і конденсації речовини білого кольору (рис. 2а). Протягом 7–14 діб дії Zn^{2+} концентрична мембрана потовщується, а площа ядро-цитоплазматичного простору зменшується.

У клітинах елодеї аналогічні зміни найбільш яскраво проявляються протягом 1–3 діб дії цинку, після чого чітко спостерігається деградація клітин, розриви мембран і втрата ядро-цитоплазматичного простору (рис. 2б).

Подібні зміни відзначені і у ряски (рис. 2в). Найпомітніший ефект мембраноутворення виявлено після закінчення 3-ї доби дії іонів цинку в концентрації 5 ГДК.

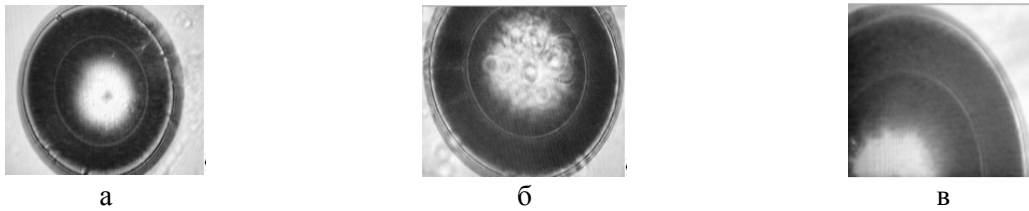


Рис. 2 Мікрофотографії клітин хлорели (а), елодеї (б) і ряски (в), які вирощені за дії іонів цинку

Іони свинцю індують утворення концентричних мембран у хлорели вже на першу добу дії, а починаючи з 3-ої доби і далі відбувається руйнування мембран, вихід вмісту цитоплазми (рис. 3а) з клітин, максимальне зменшення ядерно-цитоплазматичного простору. Останні ефекти у клітинах елодеї і ряски (рис. 3б, в) видно вже на першу добу дії токсиканту із посиленням зазначених ефектів як у міру зростання його концентрації, так і збільшення часу дії до 14 діб.

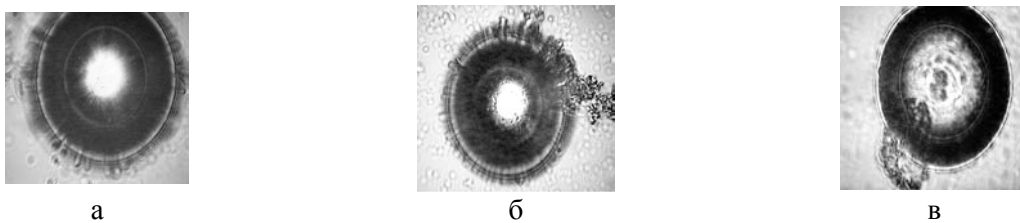


Рис. 3 Мікрофотографії клітин хлорели (а), елодеї (б) і ряски (в), які вирощені за дії іонів свинцю

Отже, дія свинцю викликає більш значні клітинні патології раніше і в менших концентраціях токсиканту, ніж дія цинку.

Дизельне паливо у хлорели викликає утворення вторинної концентричної мембрани при концентрації токсиканту 1 ГДК, потім у клітинах (5 ГДК) видно ущільнення, які формують виразну мембрану при 10 ГДК ДП (рис. 4а). У елодеї цей процес також розвивається при 1 ГДК токсиканту, а при зростанні його концентрації клітини гинуть (рис. 4б). У ряски при 10 ГДК ДП видно розриви мембран (рис. 4в), а концентрична мембрана утворюється вже при 1 ГДК цієї речовини.

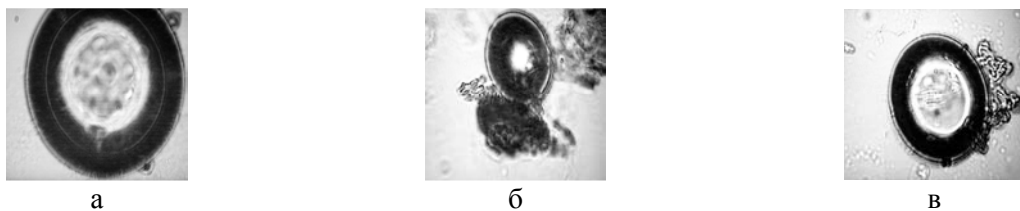


Рис. 4 Мікрофотографії клітин хлорели (а), елодеї (б) і ряски (в) при експозиції з дизельним паливом (14 день)

Процес утворення подвійної концентричної мембрани у всіх досліджених організмів універсальний і відбувається вже на першу добу дії стресорів незалежно від їх природи (біогенний цинк, токсичний свинець або неспецифічний токсикант дизельне паливо). Разом з тим, існує видоспецифічна реакція на токсикант в плані швидкості утворення, товщини і часу дезадаптивного руйнування внутрішньої концентричної мембрани. Зовнішня (первинна) мембрана при цьому консервативна за товщиною, в окремих випадках спостерігаються розриви і вихід з клітин вмісту цитоплазми.

Висновки

Реакції клітин у відповідь на дію токсикантів значною мірою зводяться до змін в її мембранних утвореннях, перш за все утворенню “подвійної концентричної мембранної системи”, що є компенсаторно-захисним механізмом. Висловлено припущення, що в основі мембранної адаптації рослин до несприятливих чинників може лежати гіперплазія ендоплазматичного ретикулума, а саме збільшення його кількості може супроводжуватися утворенням структур, які мікроскопічно часто видно як ділянки еозинофільної цитоплазми [1, 2, 8]. Біохімічно доведено, що в структурах, сформованих гладким ендоплазматичним ретикулоном, збільшується вміст ферментів, відповідальних за детоксикацію. Отже, це явище свідчить про участь мембран у процесах детоксикації, що співвідноситься з моделлю нашого дослідження, проте вимагає детальнішого вивчення.

Для більш глибоких висновків про природу і механізми утворення подвійних концентричних мембран необхідні експериментальні дослідження фізіологічних і біохімічних властивостей адаптованих клітин.

1. *Болдырев А. А.* Биологические мембраны и транспорт ионов / А. А. Болдырев. – М. : МГУ, 1985. – 207 с.
2. *Верещагин А. Г.* Биохимия триглицеридов / А. Г. Верещагин. – М. : Наука, 1972. – 307 с.
3. *Давыдова С. Л.* Тяжелые металлы как супертоксиканты XXI века: Учебн. пос. / С. Л. Давыдова, В. И. Тагасов. – М., 2002. – 140 с.
4. *Костюк К. В.* Вплив іонів Zn^{2+} та Pb^{2+} на активність АТФ-аз у одноклітинної водорості *Desmodesmus communis* (*Scenedesmus quadricauda*) Brev. / К. В. Костюк, О. І. Боднар, В. В. Грубінко // Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2008. – Вип. 2 (36). – С. 143 – 148.
5. *Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике* / под ред. А. В. Топачевского. – К. : Наук. думка, 1975. – 247 с.
6. *Мосин О. В.* О феномене клеточной адаптации к тяжелой воде / О. В. Мосин.
Режим доступу: <http://www.gaudeamus.omskcity.com>
7. *Финдлей Дж.* Биологические мембраны. / Дж. Финдлей, У. Эванз. – М. : Мир; 1990. – 423 с.
8. *Чиркова Т. В.* Клеточные мембраны и устойчивость растений к стрессовым воздействиям / Т. В. Чиркова // Соросовский образовательный журнал. – 1997. – № 9. – С. 12 – 17.
9. *Чиркова Т. В.* Пути адаптации растений к гипоксии и аноксии / Т. В. Чиркова. – Л. : Изд-во ЛГУ, 1988. – 244 с.
10. *Baerwald R. J.* Double membrane-bounded intestinal microvilli in *Oncopeltus fasciatus* / R. J. Baerwald, J. B. Delcarpio // Cell and Tissue Research. – 1983. – Vol. 232, № 3. – P. 593 – 600.
11. *Broda B.* Metody histochemii roslinnej / B. Broda. – Warszawa: Panstwowy zaklad wydawnictw lekarskich, 1971. – 255 p.
12. *Fawcett D. W.* Observations on the cytoplasmic membranes of testicular cells examined by phase contrast and electron microscopy / Fawcett D. W., Ito S. // J. Biophys. Biochem. Cytol. – 1958. — Vol. 4, № 2. – P. 135 – 142.
13. *Ito H.* Fine structure in ascosporegenesis of freeze-substituted *Arthroderma simii* / H. Ito, H. Hanyaku, T. Harada, S. Tanaka // Revista Iberoamericana de Micología (Bilbao, Spain). – 2000. – Ap. 699, E-48080. – P. 13 – 16.
14. *Revels J. P.* Electron Micrographs of Myelin Figures of Phospholipide Simulating Intracellular Membranes J. P. Revels, S. Ito, D. W. Fawcett // J. Biophys. and Biochem. Cytol. – 1958. – Vol. 4, № 4. – P. 495 – 501.
15. *Tanaka S.* Ultrastructure of the concentric membrane system in asci of *Arthroderma vanbreuseghemii* / S. Tanaka, T. Fujigaki, S. Watanabe // Sabouraudia. – 1982. – Vol. 20, № 2. – P. 127 – 136.
16. *Tanaka S.* Differentiation of the double membrane system during ascospore-maturation of *Arthroderma vanbreuseghemii* as revealed by periodic acid-alkaline bismuth staining / S. Tanaka, T. Fujigaki, S. Watanabe // Mycopathologia. – 1984. – Vol. 86, № 1. – P. 55 – 58.
17. *Tiwari S. C.* In dry pear (*Pyrus communis* L.) pollen, membranes assume a tightly packed multilamellate aspect that disappears rapidly upon hydration / S. C. Tiwari, V. S. Polito, B.D. Webster // Protoplasma. – 1990. – Vol. 153, № 3. – P. 157 – 168.

18. Xianjiang Kang. A transmission electron microscopy investigation: the membrane complex in spermatogenesis of *Fenneropenaeus chinensis* / Xianjiang Kang, Shaoqin Ge, Mingshen Guo, Guirong Liu, Shumei Mu. // Cytotechnology. – 2008. – Vol. 56, № 2. – P. 113 – 121.

К.В. Костюк, В.В. Грубинко

Тернопольский национальный педагогический университет им. Владимира Гнатюка, Украина

СТРУКТУРНА РЕАКЦІЯ КЛЕТОЧНИХ МЕМБРАН ВОДНИХ РАСТЕНЬ НА ДІЙСТВО ТОКСИКАНТІВ

В статті розглядаються зміни мембран кліток водних рослин при впливі іонів цинку, свинцю та дизельного палива. Вперше описано механізм адаптації водних рослин до хімічних речовин за рахунок індукції утворення в їх клітках вторинних концентричних мембран.

Ключові слова: водні рослини, важкі метали, дизельне паливо, вторинні концентричні мембрани

K.V. Kostyuk, V.V. Grubinko

Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University, Ukraine

STRUCTURAL REACTION CELL MEMBRANES OF WATER PLANTS TO THE ACTION OF TOXICANTS

The article shows data of effects of toxic factors in the aquatic environment on plasma membranes of water plants and their role in the processes of adaptation. The mechanisms of adaptation of water plants are first considered due to induced formation of the double concentric membran.

Key words: water plants, heavy metals, diesel fuel, double concentric membrans

Рекомендує до друку

Надійшла 20.09.2010

М.М. Барна

УДК 582.923.1+574.3

О.Ю. МАЙОРОВА¹, Л.Р. ГРИЦАК¹, Г.І. ПАСІЧНИК¹, І.В. БУДЗАН¹, В.М. МЕЛЬНИК², Н.М. ДРОБИК¹

¹Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027

²Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03680

ЗМІНИ СТАНУ ПОПУЛЯЦІЙ *GENTIANA ASCAULIS* L. У ЧОРНОГОРІ (УКРАЇНСЬКІ КАРПАТИ)

Проведено аналіз стану туркульської і реберської популяцій *G. acaulis*, які зростають у різних еколого-географічних умовах у Чорногорі. У 2002 і 2010 рр. досліджено основні популяційні характеристики: щільність, вікову структуру, здатність до відновлення і самопідтримання. Показано суттєві зміни цих параметрів, що свідчить про погіршення стану популяцій.

Ключові слова: *Gentiana acaulis* L., популяція, щільність, вікова структура, індекс відновлення, насіннева продуктивність

До переліку карпатських видів, чисельність популяцій яких невпинно скорочується, належить тирлич безстебловий (*Gentiana acaulis* L.). Цьому виду надано статус рідкісного і занесено до Червоної книги України (2009) [16]. Відомо, що *G. acaulis* зростає на скелях, кам'янистих