МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

ЖИТОМИРСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

ІНСТИТУТ ГІДРОБІОЛОГІЇ НАН УКРАЇНИ

ІНСТИТУТ ЗООЛОГІЇ НАН УКРАЇНИ

ГІДРОЕКОЛОГІЧНЕ ТОВАРИСТВО УКРАЇНИ

УКРАЇНСЬКЕ НАУКОВЕ ТОВАРИСТВО ПАРАЗИТОЛОГІВ

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВОЛОДИМИРА ГНАТЮКА

ЖИТОМИРСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРОЕКОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ – 2017

ЗБІРНИК НАУКОВИХ ПРАЦЬ

VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю

«Біологічні дослідження – 2017»

14–16 березня 2017 року

Житомир – 2017

ПП «Рута»

УДК 577
ББК 28.0
Б 63

Рекомендовано до друку вченою радою
Житомирського державного університету імені Івана Франка
(протокол №11 від 31 березня 2017 року)

Рецензенти

Світлана Вікторівна Гордійчук – кандидат біологічних наук, доцент кафедри природничих та соціально-гуманітарних дисциплін, проректор з навчальної роботи Житомирського інституту медсестринства

Ірина Дмитрівна Бойчук – кандидат педагогічних наук, заступник директора з навчальної роботи Житомирського базового фармацевтичного коледжу ім. Г.С. Протасевича

Микола Михайлович Свительський– кандидат сільськогосподарських наук, доцент кафедри загальної екології Житомирського національного агроекологічного університету

Біологічні дослідження – 2017: Збірник наукових праць. – Житомир: ПП «Рута», 2017. – 440 с.

У збірнику подаються нові результати теоретичних, прикладних та науково-методичних досліджень провідних учених із широкого спектру біологічних проблем. Видання розраховане на студентів, аспірантів, вчителів, викладачів та науковців.

Редакційна колегія:

Саух Петро Юрійович – ректор ЖДУ імені Івана Франка, д.ф.н., проф. (голова);
Романенко Віктор Дмитрович – директор Інституту гідробіології НАН України, академік НАНУ, д.б.н. (співголова);
Акімов Ігор Андрійович – директор Інституту зоології імені І.І.Шмальгаузена НАНУ; чл.-кор. НАНУ, д.б.н. (співголова);
Сейко Наталія Андріївна – проректор з наукової роботи ЖДУ імені Івана Франка, д.п.н., проф.;
Янович Лариса Миколаївна – проректор з навчальної роботи ЖДУ імені Івана Франка, д.б.н., доц.;
Романенко Олександр Вікторович – зав. кафедри біології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, чл.-кор. НАНУ, д.б.н., проф.;
Афанасьєв Сергій Олександрович - заступник директора Інституту гідробіології НАНУ з наукової роботи, д.б.н., проф.;
Юришинець Володимир Іванович - заступник директора Інституту гідробіології НАНУ з наукової роботи, д.б.н.;
Романчук Людмила Донатівна - проректор з наукової роботи та інноваційного розвитку ЖНАЕУ, д. с.-г. н., проф.;
Корнюшин Вадим Васильович – гол.н.с. відділу паразитології Інституту зоології імені І.І. Шмальгаузена НАНУ, д.б.н., проф.;
Межжерін Сергій Віталійович – зав. відділом еволюційно-генетичних основ систематики Інституту зоології імені І.І. Шмальгаузена НАНУ, д.б.н., проф.;
Грубінко Василь Васильович – зав. кафедри загальної біології та методики навчання природничих дисциплін Тернопільського національного університету імені Володимира Гнатюка, д.б.н., проф.;
Крот Юрій Григорович – пр.н.с. відділу екологічної фізіології водяних тварин Інституту гідробіології НАН України, к.б.н.;
Кутек Тамара Борисівна – декан факультету фізичного виховання і спорту ЖДУ імені Івана Франка, доктор наук з фізичного виховання та спорту, проф.;
Вискушенко Дмитро Андрійович – декан природничого факультету ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц.;
Стадниченко Агнеса Полікарпівна – зав. кафедри зоології ЖДУ імені Івана Франка, д.б.н., проф.;
Житова Олена Петрівна – зав. кафедри екології лісу та безпеки життєдіяльності ЖНАЕУ, д.б.н., доц.;
Киричук Галина Євгеніївна – зав. кафедри ботаніки, біоресурсів та збереження біорізноманіття ЖДУ імені Івана Франка, д.б.н., проф.;
Гарбар Олександр Васильович – зав. кафедри екології та природокористування ЖДУ імені Івана Франка, д.б.н.;
Корнійчук Наталія Миколаївна – зав. кафедри медико-біологічних основ фізичного виховання та спорту ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц.;
Огороднійчук Марія Володимирівна – ст. викладач кафедри медико-біологічних основ фізичного виховання та спорту ЖДУ імені Івана Франка, к.ф.н.;
Гирина Альона Асанівна – старший лаборант кафедри медико-біологічних основ фізичного виховання і спорту.

Матеріали друкуються в авторській редакції. За достовірність фактів, власних імен та інші відомості відповідають автори публікації. Думка редакції може не збігатися із думкою авторів.

ISBN 978-617-581-311-9

©ЖДУ імені Івана Франка, 2017
©ПП «Рута», 2017

різних поживних середовищах, як твердих щільних, так і рідких при температурному оптимумі 30^0C. Персистенція L-форм досягалась в рідкому МС середовищі з додаванням солей ацетату натрію. Визначено, що бактерії розмножувались в мікроаерофільних і анаеробних умовах. Вегетативна форма утворювала колонії S-типу, які при старінні культури змінювались колоніями R-типу, а пізніше на колонії L-типу, що складались з клітин, які повністю або частково втратили клітинну стінку. S-колонії складались переважно з грам негативних паличковидних форм (розміри 1-3 мкм); R-колонії - з коккоподібних форм (розміри 0,5-1 мкм); L-колонії - з клітин різноманітних форм і розмірів (0,3-3 мкм) - коккоподібних, паличковидних, нитчастих, грушовидних, неправильної округлої або витягнутої форми, часто з випиннаннями, інвагінації і внутрішніми везикулами.

Ізольований нами штам виявився стійкий до пеніциліну, канаміцину, ампіциліну, цефазоліну, цефотаксиму. Встановлено, що резистентність до антибіотиків визначається плазмідних фактором і втрачається після обробки бромистим етидієм. Цефтазидим індукує трансформацію вегетативної форми бактерій в L-форму, здатну проникати в клітини *Nicotiana tabacum*.

Культивування при температурі вище 35^0C, призводило до інфільтрації бактерій на поверхню листя та утворення колоній S-форми *Pseudomonas* sp. Аналогічний ефект був помічений при дії іонізуючого випромінення на культуру рослин тютюну. Відмічено, що бактеріальна активність була дозо залежною. Так при при дозі в 20-23 Грея виділенна бактерія не призводила до загибелі рослини, в той час як при збільшенні дози до 25 Грей, відбувалися процеси, які призводили до активізації фітопатогенних властивостей бактерії та швидкої загибелі рослин.

Маркером фітопатогенної трансформації є виділення бактеріями в живильне середовище ряду пігментів - піовердін, піорубін, піоціанін, піомеланін.

Латентна персистенція бактеріальних ендосимбіонтов в клітинах може впливати на результати лабораторних експериментів, а також на нормальну і патологічну фізіологію рослин в умовах стресової дії.

Триває робота по визначення штамової приналежності бактеріальної культури та її детального опису.

Література

1. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F Skoog // Physiol Plant. – 1962. – Vol. 15. – P. 473–497.

УДК: 57.043: 611.018.5: 547.42

МЕХАНИЗМ ЗАЩИТЫ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ЗАМОРАЖИВАНИИ В КОМБИНИРОВАННЫХ КРИОКОНСЕРВАНТАХ

В.В. Рамазанов[1], Е.Л. Воловельская[2], В.А. Бондаренко[3]
[1,2,3]Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, Харьков, Украина

Исследовали криозащитную эффективность непроникающих полимеров (декстран, ПЭГ-1500) и комбинированных сред, содержащих полимеры и проникающие криопротекторы (ДМСО, 1,2-ПД). Установлено, что гемолиз эритроцитов под действием катионного детергента ЦТАБ (цетилтриметиламмонийбромид) значительно подавляется при включении в среду декстрана или ПЭГ-1500. В то же время, присутствие в среде модификатора белка полосы 3 ДИДС (диизотиоцианато-стильбен-дисульфонат) вызывает рост чувствительности эритроцитов к действию данного детергента независимо от присутствия указанных неэлектролитов. Гемолиз эритроцитов

под действием неионного детергента Твин-20 показал, что декстран и ПЭГ-1500 незначительно снижают чувствительность клеток к данному детергенту. В то же время, ДИДС приводит к снижению чувствительности клеток к Твин-20 независимо от состава среды [2]. В мембране белок полосы 3 находится в димерных и тетрамерных формах [11]. Диссоциация тетрамеров на димеры при связывании ДИДС приводит к увеличению площади гидрофобного контакта белка полосы 3 с липидами [12]. Вместе с тем, связывание цитоскелета с мембраной опосредуется тетрамерными формами белка полосы 3 [11]. Необходимо отметить, что гемолитическое действие ЦТАБ осуществляется в молекулярной форме, тогда как действие Твин-20 – в мицеллярной форме [8]. Поскольку при связывании с мембранами эритроцитов ДИДС вызывает диссоциацию тетрамеров белка полосы 3 на димеры [11], он может способствовать действию ионных детергентов, которые производят солюбилизацию мембран и гидрофобных мембранных белков [9]. При диссоциации тетрамеров на димеры площадь гидрофобного контакта протеин-липид увеличивается [12], поэтому действие неионных детергентов на мембраны может ослабляться, так как они солюбилизирует в основном липиды [7]. ДИДС усиливает действие ионного детергента ЦТАБ и ослабляет действие неионного детергента Твин-20 в средах, содержащих полимерные криопротекторы, которые в свою очередь подавляют гемолиз.

На основании описанных результатов можно предположить, что полимеры стабилизируют тетрамерные формы белка полосы 3, что приводит к усилению взаимодействия цитоскелета с мембраной. Несмотря на данное упрочнение мембраны, эритроциты, после замораживания в средах, содержащих полимеры морфологически представлены сфероцитами и являются осмотически хрупкими [3, 5, 6]. Следовательно, среды, содержащие декстран или ПЭГ-1500, не обладают достаточной криозащитной эффективностью.

При быстром замораживании эритроцитов в жидком азоте (300ºС/мин) в среде, содержащей декстран или ПЭГ-1500, значительная степень повреждения и нарушение осмотических и морфологических характеристик определяется гипертоническим и осмотическим (постгипертоническим) стрессом при охлаждении и оттаивании [1, 4, 10]. Для ослабления указанных повреждающих факторов в среду с непроникающим полимером необходимо включить проникающий криопротектор (ДМСО или 1,2-ПД). Поступление в эритроциты проникающих криопротекторов обеспечивает ослабление дегидратации и действия гипертонического стресса на клетки при охлаждении, что является условием для сохранения устойчивости эритроцитов к осмотическому (постгипертоническому) стрессу при оттаивании [1, 4]. Это дает возможность получать клетки с удовлетворительными осмотическими и морфологическими характеристиками после их отмывания от криоконсерванта [3, 5, 6].

Таким образом, экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что для эффективной криопротекции эритроцитов криоконсервант должен содержать комбинацию непроникающего и проникающего криопротекторов. Положительный эффект проникающего компонента определяется ограничением значительной дегидратации клеток при охлаждении и вымерзании воды во внешнем растворе замораживаемых образцов, тогда как непроникающий компонент при оттаивании обеспечивает предупреждение чрезмерной регидратации и достижения клетками максимально «критического» объема, при котором наступает разрыв мембран. В результате замораживания данный состав обеспечивает высокую степень сохранности клеток. Предложенный механизм стабилизации мембран в комбинированных средах обосновывает использование подобных составов при криоконсервировании других клеток, так как при замораживании-оттаивании они также подвергаются дегидратации-регидратации.

Литература

1. Рамазанов В. В. Влияние комбинированных сред на повреждение эритроцитов, замороженных с различным гематокритом / В. В. Рамазанов // Проблемы криобиологии. – 2006. – Т. 16, № 2.–С. 155–163.
2. Рамазанов В. В. Влияние криопротекторов на устойчивость эритроцитов к детергентам при модификации агрегатного состояния белка полосы 3 / В. В. Рамазанов, В. А. Бондаренко // Проблемы криобиологии. – 2007. – Т. 17, № 4. – С. 335–346.
3. Рамазанов В.В. Защитная эффективность комбинированных сред с непроникающими и проникающими криопротекторами при замораживании клеток крови / В.В. Рамазанов, Т.И. Дейнеко, Е.Л. Воловельская, В.А. Коптелов, В.А. Бондаренко // Український журнал гематології та трансфузіології. – 2011. – № 1 (11) – С. 39-45.
4. Рамазанов В.В. Проявление и устранение эффекта «упаковки» в средах с непроникающими и проникающими криопротекторами / В.В. Рамазанов В.А. Бондаренко // Проблемы криобиологии. – 2009. – Т. 19, № 3 – С. 312–323.
5. Рамазанов В.В. Свойства эритроцитов, замороженных в среде с декстраном, диметилсульфоксидом и глюкозой / В.В. Рамазанов, Е.Л. Воловельская, В.А. Коптелов, В.А. Бондаренко // Вісник проблем біології і медицини. – 2012.– Т. 1, Вип. 3. – С. 241–246.
6. Рамазанов В.В. Свойство эритроцитов, замороженных в среде с полиэтиленгликолем и 1,2-пропандиолом / В.В. Рамазанов, Е.Л. Воловельская, В.А. Коптелов, В.А. Бондаренко // Вісник проблем біології і медицини. – 2014.– Т. 2, Вип. 3. – С. 230–236.
7. Kragh-Hansen U. The Mechanism of Detergent Solubilization of Liposomes and Protein–Containing Membranes / U. Kragh-Hansen, M. le Maire, J.V. Møller // Biophys J. – 1998. – Vol. 75, № 6. – P. 2932–2946.
8. Le Maire M. Interaction of membrane proteins and lipids with solubilizing detergents / M. Le Maire, P. Champeil, J.V. Moller // Biochim. Biophys. Acta. – 2000. – Vol. 1508. – P. 86–111.
9. Matson R.S. Use of high–performance size exclusion chromatography to determine the extent of detergent solubilization of human erythrocyte ghosts / R.S. Matson, S.C. Goheen // J Chromatogr. – 1986. – Vol. 359. – P. 285–295.
10. Pegg D. E. Principles of cryopreservation / D. E. Pegg // Meth. Mol. Biol. 2007, V. 368, P. 39–57.
11. Van Dort H.M. Effect of band 3 subunit equilibrium on the kinetics and affinity of ankyrin binding to erythrocyte membrane vesicles / H.M. Van Dort, R. Moriyama, P.S. Low // J Biol Chem. – 1998. – Vol.273, № 24. – P. 14819–14826.
12. Van Dort H.M. Analysis of integral membrane protein contributions to the deformability and stability of the human erythrocyte membrane / H.M. Van Dort, D.W. Knowless, J.A. Chasis, G. Lee, N. Mohandas, P.S. Low // J. Biol. Chem. – 2001. – Vol. 276, № 50. – P. 46968–46974.

УДК 57.043:615.21/.26:547.426.1:612.111

ЕФЕКТИВНІСТЬ ХЛОРПРОМАЗИНУ В МОДЕЛЬНИХ ЕКСПЕРИМЕНТАХ І ПРИ ВИДАЛЕННІ ГЛІЦЕРИНУ З КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЕРИТРОЦИТІВ

О.О. Чабаненко[1], К.А. Сєміонова[2], Н.В. Орлова[3], Н.М. Шпакова[4]

[1,3,4]Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАНУ, вул. Переяславська,23, Харків, 61016, Україна

[2]Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи 4, Харків, 61022, Україна

У трансфузійної медицині еритроцити зберігають охолодженими протягом не більш ніж 6 тижнів. В якості альтернативи, кріоконсервація дозволяє зберігати еритроцити протягом багатьох років. В наш час актуальної проблемою є розробка нових підходів до вирішення проблем довготривалого зберігання еритроцитів в умовах