

Н. Демченко, асп., В. Баданина, канд. биол. наук,
О. Фугорна, канд. биол. наук, Палагеча Р., канд. биол. наук, Н. Таран, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ДЕКОРАТИВНЫЕ КАЧЕСТВА ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ В БОТАНИЧЕСКОМ САДУ ИМ. АКАД. О.В. ФОМИНА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА MAGNOLIACEAE JUSS

Целью работы было выявить особенности проявления признаков декоративности видов *Magnoliaceae* Juss. на примере растений из коллекции Ботанического сада им. акад. А.В. Фомина УНЦ "Институт биологии и медицины" в условиях киевского мегаполиса. У 12-ти листопадных представителей семейства изучали комплексную и сезонную декоративность, оценивали декоративность отдельного растения, определяли общий годовой показатель декоративности, исследовали сезонный ритм развития растений на основании фенологических наблюдений. Основные физиологические показатели, которые принимались во внимание: бутонизация, раскрытие цветочных и вегетативных почек, формирование листа, цветение, плодоношение. Все исследованные виды в условиях Ботанического сада проходят полный цикл сезонного развития: цветут, развиваются, формируют нормально развитые плоды и семена. По срокам начала вегетации виды разделены на две группы: средние (*L. chinense* (Hemsl.) Sarg., *L. tulipifera* L., *M. stellata* (Siebold & Zucc.) Maxim., *M. tripetala* L., *M. officinalis* Rehder & E.H. Wilson, *M. denudata* Desr., *M. liliiflora* Desr., *M. kobus* DC., *M. soulangeana* Soul.-Bod., *M. salicifolia* (Sieb. Et Zuss.) Maxim., *M. obovata* Thunb.) и поздние (*M. biondii* Pamp.), а по датам начала цветения относительно сезонов года – на три группы: ранневесенние (*M. stellata*, *M. denudata*, *M. salicifolia*, *M. kobus*); поздневесенне-раннелетние (*L. chinense*, *L. tulipifera*, *M. tripetala*, *M. officinalis*, *M. liliiflora*, *M. soulangeana*, *M. obovata*); среднелетние (*M. biondii*). Сделан вывод о высокой декоративности исследованных видов (общий годовой показатель декоративности составляет 4 балла), их высокой адаптационной способностью к изменению условий среды и необходимости более широкого использования магнолиевых в озеленении урбандошафтов как перспективных климатоформирующих растений.

Ключевые слова: *Magnoliaceae*, декоративность, сезонный ритм развития, фенологические наблюдения.

N. Demchenko, Ph. D. stud., V. Badanina, Ph. D.,
O. Futorna, Ph. D., Palagecha R., Ph.D.,
N. Taran, Dr. Sci.
National Taras Shevchenko University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

DECORATIVE QUALITIES OF REPRESENTATIVES OF MAGNOLIACEAE JUSS. INTRODUCED IN THE O.V. FOMIN BOTANICAL GARDEN

The purpose of the work was to find out the features of manifestation of the features of the decorative nature of the species of the *Magnoliaceae* Juss. on the example of plants from the collection of the O.V. Fomin Botanical Garden of the ESC "Institute of Biology and Medicine" on the climatic conditions of the Kiev metropolis. This article provides detailed study the 12 leaf-declining species of the *Magnoliaceae*. We studied the complex and seasonal decorativeness, estimated decorativeness, determined the total annual indicator of decorativeness, investigated the seasonal rhythm of plant development on the basis of phenological observations. Basic physiological indicators that were taken into account: budding, opening of flower and vegetative buds, leaf formation, flowering and fruiting. All species that were investigated undergo a full cycle of seasonal development: beautifully bloom, develop and form normally developed fruits and seeds in conditions of ex situ of the Botanical Garden. The species are divided into two groups according to the beginning of the growing season: medium (*L. chinense* (Hemsl.) Sarg., *L. tulipifera* L., *M. stellata* (Siebold & Zucc.) Maxim., *M. tripetala* L., *M. officinalis* Rehder & E.H. Wilson, *M. denudata* Desr., *M. liliiflora* Desr., *M. kobus* DC., *M. soulangeana* Soul.-Bod., *M. salicifolia* (Sieb. Et Zuss.) Maxim., *M. obovata* Thunb.) and late (*M. biondii* Pamp.); into three groups according to the dates of flowering relative to the seasons of the year: early spring (*M. stellata*, *M. denudata*, *M. salicifolia*, *M. kobus*), late spring and early summer (*L. chinense*, *L. tulipifera*, *M. tripetala*, *M. officinalis*, *M. liliiflora*, *M. soulangeana*, *M. obovata*), middle summer (*M. biondii*). The high decorative of studied species (their total annual decorative rate is 4 points) and their high adoptative ability to changes of environmental conditions are concluded. Thus, there is a necessary to extend the using of magnolias in landscaping of urban landscapes as climate forming plants.

Key words: *Magnoliaceae*, decorativeness, seasonal rhythm of development, phenological observations

УДК 578.81

В. Головань, асп., О. Андрійчук, канд. біол. наук, І. Будзанівська, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ВИВЧЕННЯ РІЗНОМАНІТТЯ ВІРУСІВ БАКТЕРІЙ, ВИДІЛЕНИХ ІЗ БІОТОПІВ МОХУ ТА ҐРУНТУ АНТАРКТИЧНОГО РЕГІОНУ

До нинішнього часу частка досліджених наукою найчисленніших біологічних об'єктів – бактеріофагів є мізерною порівняно з іншими біологічними представниками мікро- та макросвіту. Їхні властивості добре досліджені лише для невеликої кількості так званих модельних бактеріофагів. Водночас виділення фагів із екосистем, що функціонують в умовах низьких температур, представляє значний науковий інтерес і має певні методичні складнощі. Метою дослідження було вивчення різноманіття вірусів бактерій (фагів), виділених із біотопів моху та ґрунту антарктичних рослин. Методи: виділення бактеріофагів зі зразків моху та ґрунту, титрування за методом Грація, накопичення фагів у рідкому поживному середовищі з примусовою аерацією, електронна-мікроскопія, статистичні методи. Результати: проведено виділення вірусів бактерій (бактеріофагів) із біотопів моху та ґрунту. Описано морфологію негативних колоній і вірусних часток отриманих ізолятів фагів. Початок утворення негативних колоній спостерігався через 5–7 діб, в інших через 7–10 діб. Закінчувалось їхнє формування ще через 10–12 діб. Найдовше формування негативних колоній відбувалося саме на антарктичних штамах бактеріальних культур. Встановлено їхню таксономічну різноманітність. Виявлені вірусні частки представлено різними морфотипами, притаманні вірусам родин: *Muoviridae*, *Rodoviridae* та *Siphoviridae* порядку *Caudovirales*. Висновки: виділено ізоляти фагів до чутливих бактерій. Описано різноманітність бактеріофагів, що свідчать про таксономічне різноманіття бактеріофагів у наземних біотопах островів Аргентинського архіпелагу та створено колекцію за їхньою характеристикою.

Ключові слова: Антарктида, віруси бактерій (бактеріофаги), вірусні частки.

Вступ. В останні роки значну увагу науковців привертає дослідження Антарктичного континенту. Чисельна кількість організмів, яка є особливим об'єктом дослідження, перебуває в умовах вічної мерзлоти. Мікроорганізми, що циркулюють на Антарктичному континенті та на островах, мають унікальні стратегії адаптації для виживання в середовищі низьких температур [9, 11].

А дослідження особливостей виживання фагових популяцій у природі – їхніх еволюційних зв'язків, адаптації до бактерій, зовнішнього середовища на сьогодні не вивчені. Однією із задач, яка вирішує це питання, є визначення географічного ареалу поширення фагів, вивчення їхніх властивостей та еволюційних особливостей у різних кліматичних умовах.

Віруси чисельно домінують у навколишньому середовищі і становлять велику частку генетичного різноманіття на Землі [15, 20]. Вони впливають на структуру бактеріальних спільнот, генетичне різноманіття та еволюцію мікроорганізмів [16]. Віруси бактерій, здатні змінювати внутрішньо- та міжвидові взаємодії бактерій, таким чином впливають на динаміку бактеріальних популяцій [4, 13].

Інформації про різноманітність і мінливість вірусів бактерій, на сьогодні поширених на Антарктичному континенті, небагато, хоча такі нові незалежні від культивування методи, як метагеноміка, розширили розуміння про багатогранність і мінливість вірусів [5, 10, 14]. Обмеженість інформації про біологічні властивості вірусів в основному пов'язана з відсутністю універсальних генних маркерів для проведення молекулярних досліджень, а також складністю пошуку чутливих бактерій для дослідження біологічних властивостей вірусних спільнот [1, 6, 7]. Зазвичай дослідження в Антарктиці спрямовані на комплексну характеристику чисельності наземних і морських екосистем на всіх рівнях організації, вивчення стратегій виживання антарктичних організмів під впливом екстремальних факторів. На даний час не опубліковано жодного комплексного аналізу вірусного різноманіття в наземних біотопах Антарктиди [8, 12, 17]. З точки зору комплексного підходу до досліджень екосистем увагу слід приділити вірусам, що поширені не лише в прісноводних і морських середовищах, але й в наземних біотопах. Отже, існує потреба у вивченні і дослідженні вірусів мікроорганізмів, поширених на Аргентинських островах. Проведення таких досліджень є актуальною задачею як для встановлення механізмів збереження популяцій фагів у суворих умовах, так і аналізу шляхів їхньої еволюції.

Мета дослідження – вивчення різноманіття вірусів бактерій, виділених з біотопів моху ґрунту антарктичних рослин.

Матеріали і методи. Бактеріофаги виділяли зі зразків ґрунту і моху, відібраних під час сезонних робіт у 2018 р. на архіпелазі Аргентинських островів у місцезнаходженні Української Антарктичної станції "Академік Вернадський", о. Галіндез.

Для виділення бактеріофагів із ґрунту і моху ми випробували декілька методик для пошуку оптимальної:

- 5 г ґрунту поміщали в 50 мл 0,1 М Tris HCl, pH 7,4, з інкубацією протягом 30 хв. Отриману суспензію центрифугували за низької швидкості (протягом 15 хв при 5000 g), отриманий супернатант центрифугували при 37 тис. об./хв протягом 1,5 год. Осад ресуспендували в 0,5 мл 0,1 М Tris HCl, pH 7,4;

- 5 г моху гомогенізували в 50 мл фізіологічного розчину, ресуспендували на орбітальному шейкері протягом 20 хв. Отриману суспензію центрифугували за низької швидкості (протягом 20 хв при 4000 g, а далі фільтрували через мембранний фільтр з порами діаметром 0,45 мкм, отримуючи на виході 30 мл кінцевого фільтрату.

Бактеріофаги виявляли шляхом прямого висіву на поживний агар. Титри визначали в бляшкоутворюючих

одиницях у мл (БУО/мл) методом двошарових агарів за методом Грація. Біологічну активність ізолятів фагів перевіряли на індикаторних штаммах бактерій. У роботі використовували культури фітопатогенних бактерій, люб'язно надані відділом фітопатогенних бактерій (колекція музею Інституту мікробіології та вірусології НАН України ім. Д.К. Заболотного), Національним антарктичним науковим центром.

Використовували 14 індикаторних культур фітопатогенних бактерій: *Erwinia carotovora*; *Erwinia herbicola*; *Xanthomonas campestris*; *Enterobacter cloacae*; *Escherichia coli*; *Pseudomonas veronii*; *Pseudomonas fluorescens* 8573; *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* 7591; *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013; *Clavibacter michiganensis* sp.; *Serratia marcescens* sp.; *Bacillus* sp.; *Sphingobacterium thalophilum* sp.; *Paenibacillus* sp.

Електронно-мікроскопічні дослідження проводились з використанням просвічувального електронного мікроскопа JEOL (JEM-1400) Центру колективного користування при Інституті мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України [21]. Вимірювання параметрів часток здійснювали за допомогою програм ImageJ (<http://imagej.nih.gov/ij/>) та Adobe Photoshop CS5, статистичну обробку даних здійснювали в Microsoft Excel.

Результати та їх обговорення. Аналізували зразки ґрунту і моху, відібраних під час сезонних робіт у 2018 р. на архіпелазі Аргентинських островів у місцезнаходженні Української Антарктичної станції "Академік Вернадський". Проби ґрунту і моху були відібрані з 14-ти різних ділянок, не охоплених льодом: Галіндез Д-4; Галіндез Д-3; Галіндез Д-2; Галіндез ВЛФ; Галіндез, Крапля; Галіндез, Дізель; Галіндез, точка колобанта; Галіндез Метео; Галіндез, поїнт 24; Галіндез, мис Магніт 24; Галіндез Д-5; Галіндез Д-12; Галіндез Щучник дернистий Пунта Аренса. Усі подальші дослідження проводились після доставки в Україну.

Зразки для дослідження відбирались у стерильних поліетиленових пакетах при температурі, нижче 0° С і були доставлені в лабораторію, де зберігалися у морозильних камерах за температури –16–18° С. Усі подальші дослідження проводились в ламінарному боксі для уникнення контамінації з лабораторними штамми бактеріофагів і бактерій. На першому етапі було отримано суспензії зразків, які були сконцентровані та досліджені за допомогою методу електронної мікроскопії. Це дало змогу встановити морфологічні особливості бактеріофагів та таксономічну приналежність.

За результатами електронно-мікроскопічних досліджень виявлено наявність ікосаедричних і сферичних вірусоподібних часток та структурних елементів віріонів (уламки хвостових відростків, скорочені чохла хвостових відростків, відламані головки). Виявлені вірусні частки були представлені різними морфотипами притаманні вірусам таких родин: *Myoviridae*, *Podoviridae* та *Siphoviridae* порядку *Caudovirales* (рис. 1).

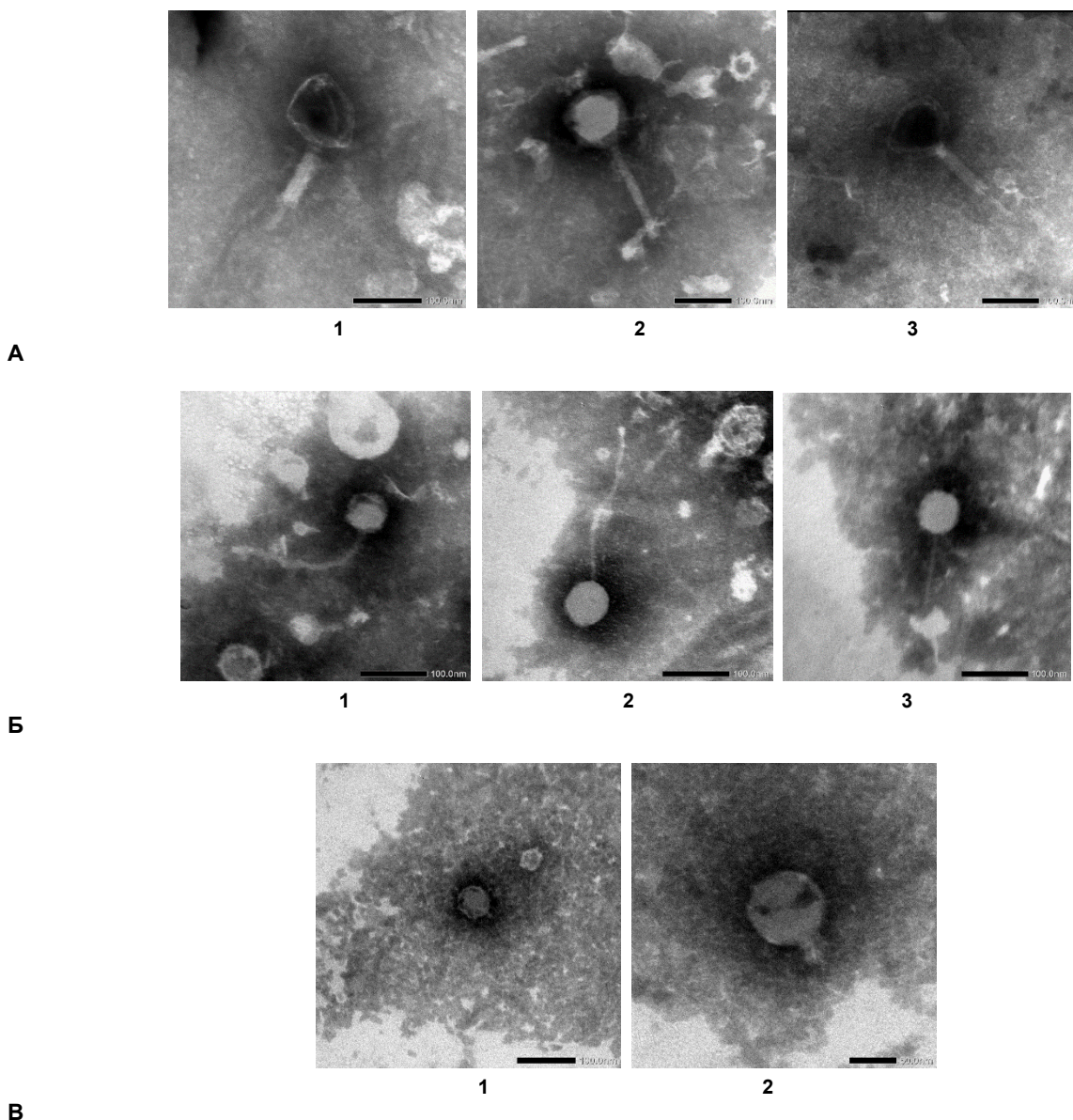


Рис. 1. Електронно-мікроскопічне зображення вірусоподібних часток, виділених із моху та ґрунту

При розгляді критеріїв, які використовують для диференціації фагів, визначення морфологічної будови дозволить вважати вірусами відомих морфологічних типів. Визначення розмірів даних віріонів дозволяє казати про їхню неоднорідність. Між ними спостерігалась різниця як у розмірі часток, так і розмірі хвостових відростків.

Серед виявлених вірусних і вірусоподібних часток були ідентифіковані:

А) фаги морфотипу А1 з ікосаедричною головкою і хвостовим відростком, що скорочується, які можна віднести до родин *Myoviridae* порядку *Caudovirales*. Багато таких вірусних часток мали скоротливі хвостові відростки та/або порожні головки. Розміри таких вірусних часток становили: довжина хвостового відростка $105,5 \pm 4$ нм, розмір головки 108 ± 3 нм (А1); довжина хвостового відростка 180 ± 4 нм, розмір головки 95 ± 2 нм (А2); довжина хвостового відростка $111,3 \pm 4$ нм, розмір головки 106 ± 3 нм (А3);

Б) фаги морфотипу В1, В2 з ікосаедричною головкою і хвостовим відростком, що не скорочується, які можна віднести до родин *Siphoviridae* порядку *Caudovirales*. Розміри таких вірусних часток становили: – довжина хвостового відростка 245 ± 4 нм, розмір головки 72 ± 3 нм

(Б1); – довжина хвостового відростка 253 ± 3 нм, розмір головки 67 ± 1 нм (Б2); – довжина хвостового відростка 102 ± 3 нм, розмір головки 65 ± 4 нм (Б3);

В) фаги морфотипу С1 з ікосаедричною головою і коротким хвостовим відростком, які можна віднести до родин *Podoviridae* порядку *Caudovirales*. Розміри таких вірусних часток становили: – розмір головки 60 ± 4 нм (В1); – розмір головки 85 ± 2 нм (В2);

На сьогодні за літературними даними існує повідомлення про істотне поширення бактеріофагів у різноманітних екологічних нішах Землі. Водночас досі майже нічого невідомо про бактеріофаги мерзлотних ґрунтів, у тому числі у ґрунтових шарах Антарктиди. Виникає запитання стосовно бактерій-хазяїв даних бактеріофагів. Як відомо, ефективність виділення вірусів із природного середовища коливається в широких межах і часто супроводжується певними труднощами, що зумовлюються малою кількістю вірусів у пробах. Тому, зважаючи на невисоку ймовірність поширення в Антарктиді фітопатогенної мікрофлори, пряме виділення фагів до неї з чистих проб представляє значний інтерес.

Для визначення кола чутливих хазяїв ізолятів було проведено дослідження спектра біологічної активності

фагів на 14-ти штаммах фітопатогенних бактерій. За літературними даними і раніше проведеними дослідженнями до фагів, виділених з антарктичного регіону, важко підібрати чутливі бактеріальні культури. Тому використовували бактеріальні ізоляти, які мають різні біологічні властивості, морфологію і належать до різних родів. У роботі були використанні бактеріальні культури, виділені з помірної частини регіону (Україна): *Erwinia carotovora*; *Erwinia herbicola*; *Xanthomonas campestris*; *Enterobacter cloacae*; *Escherichia coli*; *Pseudomonas fluorescens* 8573; *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* 7591; *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013; *Clavibacter michignensis* sp.; *Serratia marcescens* sp.; *Sphingobacterium thalophilum* sp.; *Paenibacillus* sp. та полярного (Антарктида) регіону: *Bacillus* sp, *Pseudomonas veronii*.

На даному етапі виникла проблема при виділенні фагів методом подвійних агарових шарів. Газон бактеріальної культури формувався щільно, негативні колонії

виявлено не було. Було зроблено припущення, що дане явище пов'язане з двома факторами: негативні колонії проявляються пізно, починаючи з 5 доби, і закінчуються формування на 12 добу інкубації. За цей час бактеріальна культура встигає набутися високої щільності, а це може бути пов'язане з температурними оптимумами інкубації. Для цього було поділено експеримент на 3 дослідні підгрупи, одні чашки інкубували при температурі +26–28° С, інші при +15–17° С і треті при +4–6° С. Встановлено, що формування негативних колоній бактеріофагів найкраще відбувається за температури +15–17° С. Це можна пояснити тим, що при досить високій температурі фаги повністю або частково інактивуються і втрачають свою літичну активність. При досить низькій температурі не відбувається ріст бактеріальної культури, тому утворення негативних колоній зафіксувати неможливо (табл. 1).

Таблиця 1. Спектр біологічної активності бактеріофагів чутливих до бактеріальних ізолятів

Бактеріальні ізоляти	Зразки	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<i>Bacillus</i> sp.	плями лізису	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Clavibacter michignensis</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>											дрібні негативні колонії, різної морфології, мутні >100	-	-	-	-
<i>Er. herbicola</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Erwinia carotovora</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 8573	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. syringae</i> pv. <i>lachrymans</i> 7591	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	дрібні негативні колонії, різної морфології, прозорі >100	-
<i>P. veronii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	дрібні негативні колонії, прозорі >100	-
<i>P. savastanoi</i> pv. <i>phaseolicola</i> 4013	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Paenibacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Serratia marcescens</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sphingobacterium thalophilum</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Xanthomonas campestris</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Проведення таких досліджень представляє актуальну задачу як для встановлення механізмів збереження популяцій фагів в екстремальних умовах, так і для аналізу шляхів їхньої еволюції. Зокрема, виявлення літичної активності фагів до фітопатогенних бактерій дозволяє припустити ймовірність наявності специфічних механізмів, що дозволяють набувати здатності адаптації до нових хазяїв, і поширення в бактеріальних популяціях. Для фагів, які виявляли літичну активність, було характерно утворення типових дрібних негативних колоній діаметром 0,1–0,3 см, кількість яких коливалась від 20 до 100 бляшкоутворюючих одиниць у мл (БУО/мл).

Негативні колонії, що були отримані й досліджені в лабораторії, розрізнялись за розмірами, особливостями морфології та швидкості формування їхніх бляшок. Негативні колонії утворені фагами зразка № 13 на штаммах бактеріального ізоляту *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* 7591 були не однорідними, різної морфології, прозорі. Зразок № 13 містив фаги, які утворювали негативні колонії на штаммах бактеріального ізоляту

Pseudomonas veronii. Різниця між колоніями, утвореними на українському штамі *Pseudomonas* та антарктичному штамі *Pseudomonas* полягала в тому, що колонії утворені на штамі бактеріальної культури, виділеної з біотопів Антарктиди були однорідними та прозорими. Це може свідчити про те, що штами українського бактеріального ізоляту мають більшу кількість рецепторів і можуть бути уражені фагами декількох видів, що підтверджується утворенням негативних колоній різної морфології. Натомість бактеріальний ізолят, виділений безпосередньо в регіоні відбору проб (Антарктида), уражується фагом лише одного виду. Фаги зразка № 1 утворювали плями лізису на штаммах бактеріального ізоляту *Bacillus* sp, плями були прозорі й мали різний розмір та не чіткі краї, тому було вирішено не класифікувати їх, як негативні колонії. Морфологія негативних колоній зразка № 10 на штаммах бактеріального ізоляту *Enterobacter cloacae* була різною, спостерігали утворення більше 5-ти видів колоній різної морфології, зокрема,

мутні діаметром 0,3 см, 0,5 см та 0,7 см та прозорі негативні колонії діаметром 0,1 см та 0,2 см.

При посіві фагів методом двошарових агарових шарів на чутливі культури, початок утворення негативних колоній був різний. В одних він спостерігався через 5–7 діб, в інших через 7–10 діб. Закінчувалось їхнє формування вже через 10–12 діб. Найдовше формування негативних колоній відбувалося саме на антарктичних штаммах бактеріальних культур. Порівняння морфології негативних колоній досліджуваних фагів показує їхню відмінність. При виділенні фагів встановлено, що нега-

тивні колонії утворюються, як на антарктичних штаммах бактерій (*Pseudomonas veronii*, *Bacillus* sp.), так і на українських ізолятах (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* 7591, *Enterobacter cloacae*) (рис. 2).

Результат виділення бактеріофагів з ґрунту та отримання інтактних збережених часток залежить від характеристик самих вірусів, їх стійкості до змін різних фізичних чинників зовнішнього середовища та від підбору оптимальних лабораторних методик. Це особливо актуально при дослідженні регіонів із характеристиками, відмінними від помірних кліматичних зон.

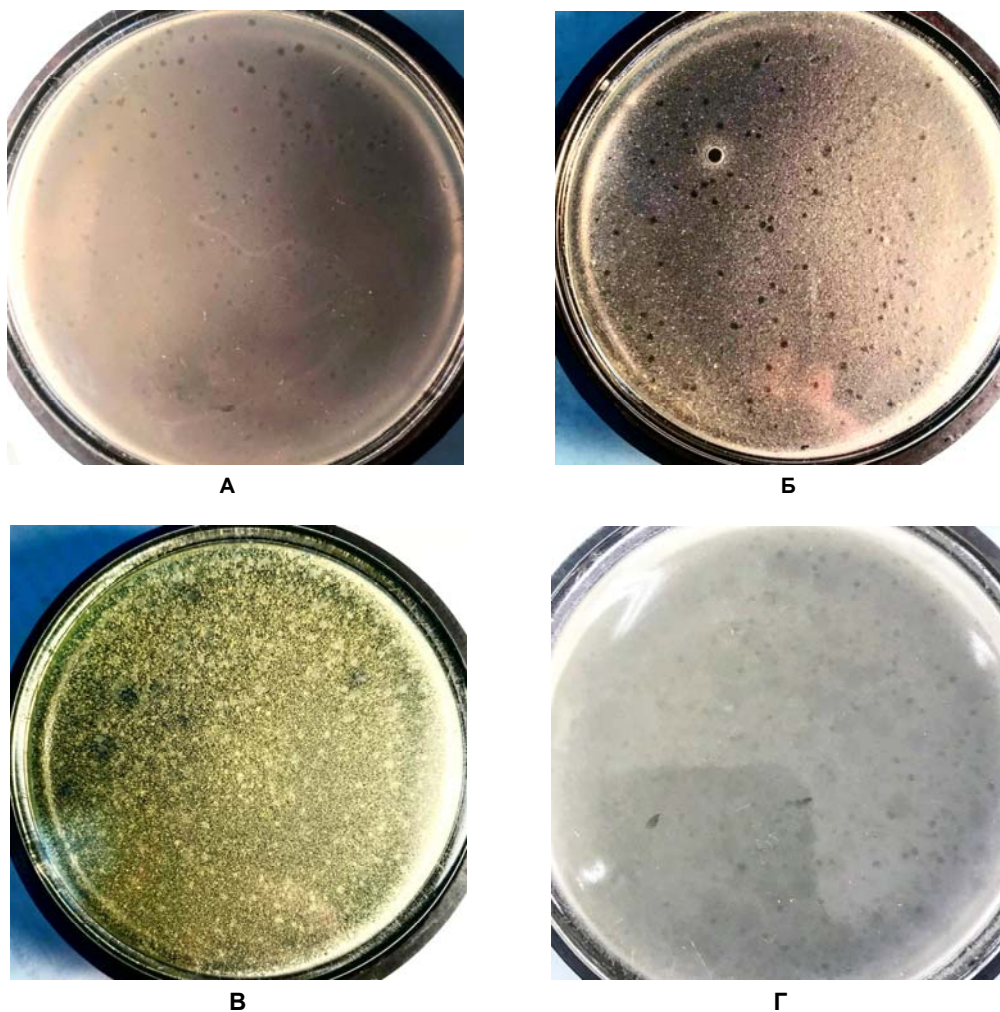


Рис. 2. Морфологія негативних колоній фагів на індикаторних бактеріях:
а) *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* 7591; б) *Pseudomonas veronii*;
в) *Bacillus* sp.; г) *Enterobacter cloacae*

Таким чином, виявлення літичної активності фагів до фітопатогенних бактерій дозволяє припустити ймовірність виділення нових вірусів мікроорганізмів із характерними властивостями, однією із яких є висока здатність адаптації до чутливих бактерій. Виявлені бактеріофаги відіграють свою роль у регулюванні щільності популяцій бактерій-хазяїв, беруть участь у харчових ланцюжках та горизонтальній передачі генетичної інформації.

Отримані результати свідчать про таксономічну різноманітність бактеріофагів, виділених з наземних біотопів островів Аргентинського архіпелагу. За попередньою оцінкою, незважаючи на географічну ізоляваність островів Антарктики і специфічні кліматичні умови на них, більшість ізольованих бактеріофагів належать до традиційних класичних таксонів, поширених у різних регіонах Землі. Ці дослідження дадуть можливість про-

довжити глибинний аналіз визначення складу вірусних популяцій в умовах Антарктиди, встановлення джерел вірусних інфекцій, оцінки розповсюдження та визначення їх ролі в екологічному аспекті та мікробіологічних спільнот в унікальних умовах.

Створення колекції фагів фітопатогенних бактерій Антарктиди, що виявляють свою активність в умовах знижених температур, може представляти собою збирання унікального генофонду вірусів. Дослідження може закласти основи створення біотехнологічних прикладних розробок із їх використанням. Таке використання може бути пов'язане як з можливими дослідженнями в галузі обмеження чисельності бактеріальних патогенів при сільськогосподарському виробництві, так і виявленням високоактивних ферментів, які можуть бути використані в молекулярно-біологічних дослідженнях.

Автори висловлюють подяку Національному антарктичному науковому центру Державного комітету України з питань науки, інновацій та інформатизації за надання зразків для досліджень та підтримку.

Висновки. Зі зразків моху і ґрунту о. Галіндез було виділено ізоляти фагів. Зразки містили значну кількість бактеріофагів різної морфології та розмірів поширених на Аргентинських островах, Антарктида, що свідчить про біорізноманіття вірусного світу. За результатами ЕМ фаги віднесені до таксономічних груп за особливостями їх будови: до родини *Podoviridae* (С1морфотипу), до родини *Siphoviridae* (В1-В2 морфотипів), родини *Myoviridae* (А1, А3 – морфотипів), порядку *Caudovirales*.

Встановлено, що температурний оптимум появи плям лізису та негативних колоній на газоні бактеріальних культур відбувається за температури +15–17°С, на 3–12 добу. Негативні колонії, що були отримані і досліджені в лабораторії, розрізнялись за розмірами, особливостями морфології та швидкості формування їх бляшок. Установлення біологічної активності фагів до бактерій дозволяє припустити ймовірність виділення нових вірусів мікроорганізмів із високою здатністю адаптації до чутливих бактерій.

Раніше проводились дослідження, які заклали основу для розуміння біорізноманіття Антарктики [18, 19], але роль вірусів у ґрунтових екосистемах залишається не вивченою. Бактеріофаги, виділені в крайніх широтах для забезпечення процесів репродукції, можуть виявляти невідомі механізми або ферментні системи. Дані дослідження функціонування систем "фітопатогенні бактерії – бактеріофаги" при низьких температурах практично повністю відсутні, що зумовлює актуальність задачі – вивчення властивостей фагів та важливість створення їх колекції.

Список використаних джерел:

1. Diel cycling and long-term persistence of viruses in the ocean's euphotic zone. / F.O. Aylward, D. Boeuf, D.R. Mende, E. M. Wood-Charlson et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2017. – Vol. 114. – P. 11446–11451.
2. Genomic analysis of uncultured marine viral communities. / M. Breitbart, P. Salamon, B. Andresen et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2002. – Vol. 99. – P. 14250–14255.
3. Ocean plankton. Patterns and ecological drivers of ocean viral communities. / J.R. Brum, J.C. Ignacio-Espinoza, S. Roux et al. // Sci., 2015. – Vol. 348. – P. 1261498.
4. Antarctic terrestrial life – challenging the history of the frozen continent? / P. Convey, Gibson, JAE, C. Hillenbrand et al. // Bio. Rev., 2008. – Vol. 83. – P. 103–107.
5. Evelien M. Environmental drivers of viral community composition in Antarctic soils identified by viromics / M. Evelien Adriaenssens, et al. // Microbiome, 2017. – Vol. 5. – P. 83–89.
6. Jensen E.C. Prevalence of broad-host-range lytic bacteriophages of *Sphaerotilus natans*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* / E.C. Jensen, H.S. Schrader, B. Rieland et al. // Appl. Environ. Microbiol., 1998. – Vol. 64, № 2. – P. 575–580.
7. Antarctic bacteria inhibit growth of food-borne microorganisms at low temperatures / A. O'Brien, R. Sharp et al. // FEMS Microbiol. Ecology, 2004. – Vol. 48. – P. 157–167.
8. Vegan: Community Ecology Package / J. Oksanen, F.G. Blanchet et al. // R package version 2.5.2, 2018.
9. Evaluation of bias induced by viral enrichment and random amplification protocols in metagenomic surveys of saliva DNA viruses. / M. Parras-Moltó, A. Rodriguez-Galet, P. Suarez-Rodriguez et al. // Microbiome, 2018. – Vol. 5. – P. 119–127.
10. Paterson H. Antarctic sea ice viral dynamics over an annual cycle / H. Paterson and J. Laybourn-Parry // Polar Biol., 2012. – Vol. 35. – P. 491–497.
11. Seasonal changes in the concentration and metabolic activity of bacteria and viruses at an Antarctic coastal site / I. Pearce, A.T. Davidson, E. M. Bell, et al. // Aquat. Microb. Ecol., 2007. – Vol. 47. – P. 11–23.
12. Filamentous bacteriophage: biology, phage display and nanotechnology applications / J. Rakonjac N. Bennett, et al. // Curr. Issues Mol. Biol., 2012. – Vol. 13. – P. 51–76.
13. Bacteriophage in polar inland waters / Ch. Sävström, J. Lisle et al. // Extremophiles, 2008. – Vol. 12. – P. 167–175.
14. Metagenomic characterisation of the viral community of Lough Neagh, the Largest Freshwater Lake in Ireland / T. Skvortsov, C. de Leeuwe et al. // PLoS ONE, 2016. – Vol. 11. – P. e0150361.
15. Suttle C.A. Marine viruses – major players in the global ecosystem / C.A. Suttle // Nature Rev. Microbiology, 2007. – Vol. 5, N 10. – P. 801–812.
16. Weinbauer M. G. Ecology of prokaryotic viruses / M.G. Weinbauer // FEMS Microbiol., 2004. – Vol. 28. – P. 127–181.
17. Wommack K.E. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems / K.E. Wommack and R.R. Colwell // Microbiol. Mol. Biol., 2000. – Vol. 64. – P. 69–114.
18. Мась Е.В. Экологическая роль вирусов фитопатогенных бактерий в Антарктиде / Е.В. Мась, Е.Н. Андрийчук, В.П. Полищук // Тр. Ин-та Микробиологии НАН Азербайджана. – Баку, 2009. – Т. 7. – С. 59–63.
19. Мась О.В. Характеристика фагів ізольованих із зразків аргентинських островів / О.В. Мась, Е.Н. Андрийчук, В.П. Полищук // Агро-екологічний ж-л, 2010. – С. 149–152.
20. Комплексне вивчення антарктичної біоти / В.П. Полищук, І.Ю. Костіков, Н.Ю. Таран та ін. // Український Антарктичний ж-л, 2009. – № 8. – С. 292.
21. Тихоненко А.С. Ультраструктура вірусів бактерій / А.С. Тихоненко. – К.: Наука, 1968.

References (Scopus):

1. Aylward, F. Diel cycling and long-term persistence of viruses in the ocean's euphotic zone. / Aylward, F. O., Boeuf, D., Mende, D. R., Wood-Charlson, E. M., et al // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2017. – Vol. 114. – P. 11446–11451.
2. Breitbart, M. Genomic analysis of uncultured marine viral communities. / Breitbart, M., Salamon, P., Andresen, B., et al // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2002. – Vol. 99. – P. 14250–14255.
3. Brum, J. Ocean plankton. Patterns and ecological drivers of ocean viral communities / Brum, J. R., Ignacio-Espinoza, J. C., Roux, S., et al // Science. – 2015. – Vol. 348. – P. 1261498.
4. Convey P. Antarctic terrestrial life – challenging the history of the frozen continent? / Convey P. Gibson, JAE, Hillenbrand, C., et al // Bio. Rev. – 2008. – Vol. 83. – P. 103–107.
5. Evelien M. Environmental drivers of viral community composition in Antarctic soils identified by viromics / Evelien M. Adriaenssens, et al // Microbiome – 2017. – Vol. 5. – P. 83–89.
6. Jensen E.C. Prevalence of broad-host-range lytic bacteriophages of *Sphaerotilus natans*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* / E.C. Jensen, H.S. Schrader, B. Rieland et al. // Appl. Environ. Microbiol. – 1998. – Vol. 64, № 2. – P. 575–580.
7. O'Brien, A. Antarctic bacteria inhibit growth of food-borne microorganisms at low temperatures / O'Brien, A., Sharp, R., et al // FEMS Microbiol. Ecology – 2004. – Vol. 48. – P. 157–167.
8. Oksanen, J. Vegan: Community Ecology Package / Oksanen, J., Blanchet, F. G., et al // R package version 2.5.2 – 2018.
9. Parras-Moltó, M. Evaluation of bias induced by viral enrichment and random amplification protocols in metagenomic surveys of saliva DNA viruses. / Parras-Moltó, M., Rodriguez-Galet, A., Suarez-Rodriguez, P. et al // Microbiome – 2018. – Vol. 5. – P. 119–127.
10. Paterson, H. Antarctic sea ice viral dynamics over an annual cycle. / Paterson, H., and Laybourn-Parry, J. // Polar Biol – 2012. – Vol. 35. – P. 491–497.
11. Pearce, I. Seasonal changes in the concentration and metabolic activity of bacteria and viruses at an Antarctic coastal site / Pearce, I., Davidson, A. T., Bell, E. M., et al // Aquat. Microb. Ecol. – 2007. – Vol. 47. – P. 11–23.
12. Rakonjac J. Filamentous bacteriophage: biology, phage display and nanotechnology applications / Rakonjac J., Bennett N., et al // Curr. Issues Mol. Biol. – 2012. – Vol. 13. – P. 51–76.
13. Sävström, Ch. Bacteriophage in polar inland waters / Sävström, Ch., Lisle, J., et al // Extremophiles – 2008. – Vol. 12. – P. 167–175.
14. Skvortsov, T. Metagenomic characterisation of the viral community of Lough Neagh, the Largest Freshwater Lake in Ireland. / Skvortsov, T., de Leeuwe, C., et al // PLoS ONE – 2016. – Vol. 11. – P. e0150361.
15. Suttle C.A. Marine viruses – major players in the global ecosystem / C.A. Suttle // Nature Rev. Microbiology. – 2007. – Vol. 5, N 10. – P. 801–812.
16. Weinbauer, M. G. Ecology of prokaryotic viruses. / Weinbauer, M. // FEMS Microbiol. – 2004. – Vol. 28. – P. 127–181.
17. Wommack, K. E. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. / Wommack, K. E., and Colwell, R. // Microbiol. Mol. Biol. – 2000. – Vol. 64. – P. 69–114.
18. Mas' E.V. EHkologicheskaya rol' virusov fitopatogennykh bakterij v Antarktide / Mas' E.V., Andrijchuk E.N., Polishchuk V.P. // Trudy Instituta Mikrobiologii NAN Azerbajdzhanu Baku. – 2009. – T. 7. – S. 59–63.
19. Mas' O.V. Harakteristika fagiv izolvanih iz zrazkiv argentsinskih ostroviv. / Mas' O.V., Andrijchuk E.N., Polishchuk V.P. // Agroekologichnij zh. – 2010. – S. 149–152.
20. Polishchuk V.P. Kompleksne vivchennya antarktichnoi bioti / Polishchuk V.P., Kostikov I.YU., Taran N.YU. ta in. // Ukrain's'kij Antarktich-nij Zhurnal. – 2009. – № 8. – С. 292.
21. Tihonenko A.S. Ul'trastruktura virusov bakterij: "Nauka". – K., 1968.

Надійшла до редакції 25.01.2019
Отримано виправлений варіант 26.02.2019
Підписано до друку 26.02.2019

Received in the editorial 25.01.2019
Received a revised version on 26.02.2019
Signed in the press on 26.02.2019

В. Головань, асп., Е. Андрійчук, канд. біол. наук, І. Будзанівська, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ИЗУЧЕНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ ВИРУСОВ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ БИОТОПОВ МХА И ПОЧВЫ АНТАРКТИЧЕСКОГО РЕГИОНА

К настоящему времени исследования многочисленных биологических объектов – фагов, является мизерной по сравнению с другими биологическими представителями микро- и макромира. Их свойства хорошо изучены лишь для небольшого числа так называемых "модельных бактериофагов". В то же время, выделение фагов с экосистем, функционирующих в условиях низких температур, представляет значительный научный интерес и имеет определенные методические сложности. Целью исследования было изучение разнообразия вирусов бактерий, выделенных из биотопов мха и почвы антарктических растений. Методы: выделение бактериофагов из образцов мха и почвы, титрования методом по Грациа, накопления фагов в жидкой питательной среде с принудительной аэрацией, электронная микроскопия, статистические методы. Результаты проведения выделения вирусов бактерий (бактериофагов) с биотопов мха и почвы. Описана морфология негативных колоний и вирусных частиц, полученных из изолятов фагов. Начало образования негативных колоний наблюдался через 5–7 суток, в других через 7–10 суток. Заключалось их формирования еще через 10–12 суток. Дольше всего формирование негативных колоний происходило именно на антарктических штаммах бактериальных культур. Установлено их таксономическую принадлежность. Выявленные вирусные частицы были представлены различными морфотипами, присущие вирусам, которые относятся к семействам: *Myoviridae*, *Podoviridae* и *Siphoviridae* порядка *Caudovirales*. Выводы: выделены изоляты фагов к чувствительным бактериям. Описано разнообразие бактериофагов, которое свидетельствует о таксономическом различии бактериофагов в наземных биотопах островов Аргентинского архипелага. Создана коллекция изолятов бактериофагов с их характеристикой.

Ключевые слова: Антарктида, вирусы бактерий (бактериофаги), вирусные частицы.

V. Holovan, Ph. D. stud., O. Andriichuk, Ph. D., I. Budzanivska, Dr. Sci.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

INVESTIGATION OF DIVERSITY OF BACTERIAL VIRUSES, ISOLATED FROM MOSS AND SOIL BIOTOPS OF ANTARCTIC REGION

Until now, there is a little number of scientifically investigated phages, in comparison to other biological representatives of the micro and macro world. Their properties are well studied only for a small number of so-called model bacteriophages. At the same time, the extraction of phages from ecosystems that function in low temperatures represents considerable scientific interest and has some methodological difficulties. The aim of the research was to study the diversity of viruses of bacteria isolated from the moss and soil of Antarctic plants. Methods: isolation of bacteriophages from moss and soil specimens, titration by the Gratia method, accumulation of phages in a liquid nutrient medium with forced aeration, electron microscopy, statistical methods. Results: The isolation of bacterial viruses (bacteriophages) from moss and soil biotops has been carried out. The morphology of negative colonies and viral particles of obtained phage isolates is described. Start of the negative colonies formation was observed in 5–7 days, in others after 7–10 days. Their formation was completed after 10–12 days. The longest formation of negative colonies occurred precisely on strains of Antarctic bacterial cultures. Their taxonomic diversity is established. The detected viral particles were represented by different morphotypes, which are typical for the viruses of the families *Myoviridae*, *Podoviridae* and *Siphoviridae* of the *Caudovirales* order. Conclusions: isolates of phages to sensitive bacteria were extracted. A description of the diversity of bacteriophages has been made, which shows the taxonomic diversity of bacteriophages in the terrestrial biotopes of the islands of the Argentine archipelago and collection according to their characteristics was created.

Key words: Antarctica, bacterial viruses (bacteriophages), viral particles.

УДК:612.111.33: 577.19(16)

Л. Дяченко, асп., Л. Степченко, канд. біол. наук
Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

ОЦІНКА ВИКОРИСТАННЯ КОРМОВИХ ДОБАВОК ГУМІНОВОЇ ПРИРОДИ ЗА ЛЕЙКОЦИТАРНИМИ ІНДЕКСАМИ У ЩУРІВ ПІСЛЯ КОМБІНОВАНОГО СТРЕСУ

У відповідь на дію стрес-факторів різного ґенезу в живому організмі запускається каскад адаптивних реакцій, які можуть нівелювати функціональні порушення гомеостазу. Комбінування впливу різних стрес-факторів може викликати надмірне утворення та накопичення активних форм кисню, що тягне за собою цілу низку патологічних станів, які створюють передумови для розвитку великої кількості захворювань. Одним з показників розвитку адаптації та інтегральним показником стану організму вважається система крові, особливо, лейкоцитарна формула, перерозподіл якої дає змогу проаналізувати характер впливу та оцінити інтенсивність адаптивних процесів в організмі за рахунок функцій, які виконують різні форми лейкоцитів. Лейкоцитарні індекси, в яких використовували параметри лейкоцитарної формули, дають змогу оцінити ступінь ендогенної інтоксикації, розвитку резистентності та характер клітинного імунітету за впливу стрес-факторів на організм тварин та людини. Тому, у статті розглянуто можливість оцінки превентивного впливу природних антиоксидантів гумінової природи за лейкоцитарними індексами на організм щурів на тлі водно-імобілізаційного комбінованого стресу (ВІКС). Для цього тварин розділили на п'ять груп по 6 тварин: 1- група інтактні тварини (контроль); 2-5 – дослідні групи. Тварини всіх дослідних груп додатково отримували перорально, індивідуально за допомогою зонду впродовж 18 діб воду, кормові добавки "Гумілід" (в розрахунок 5 мг/кг маси тіла за діючою речовиною), "Еко – Імпульс Animal" (з розрахунок 2,5 мг/кг маси тіла) та вітамін Е (в розрахунок 50мг/кг маси тіла). У тварин 2, 3, 4 та 5 груп моделювали стрес. Встановлено, що за дії водно-імобілізаційного комбінованого стресу к крові щурів відбувається зростання клітин лейкоцитарного ряду, головним чином за рахунок збільшення еозинофілії та паличкоядерних нейтрофілів. Використання у достресовий період природного антиоксиданту, кормової добавки "Гумілід" викликає зменшення кількості лейкоцитів на 41% у порівнянні зі значеннями у тварин, які в цей період отримували очищену воду та не відрізнялась від значень у інтактних тварин. Зміна лейкоцитарних індексів вказує на функціональні зміни в організмі та наявність нейтрофільного зсуву на тлі ВІКС у щурів. Також, дія ВІКС призводить до виходу в кров'яне русло більш молодих форм нейтрофілів, збільшенню як процентної частки еозинофілії, так і кількісної. За превентивного використання кормових добавок гумінової природи "Гумілід" та "Еко-Імпульс Animal" та вітаміну Е досліджувані показники наближаються до значень контрольної групи.

Ключові слова: лейкоцити, "Гумілід", "Еко-імпульс animal", стрес.

Вступ. Вплив будь-якого типу стресу (психологічного, імобілізаційного, хімічного, фізичного та ін.) на тварин, супроводжується короткочасною чи довготрива-

лою активацією окисних процесів, які в свою чергу запускають каскадні реакції адаптації, що необхідні для пристосування та нормального функціонування живого